

Серия основана в 2006 г.

Нельсон Д.

Н49 Основы биохимии Ленинджера : в 3 т. Т. 3 : Пути передачи информации / Д. Нельсон, М. Кокс ; пер. с англ. — М. : БИНОМ. Лаборатория знаний, 2015. — 448 с. : ил. — (Лучший зарубежный учебник).

ISBN 978-5-94774-367-8 (Т. 3)

ISBN 978-5-94774-364-7

В учебном издании, написанном американскими учеными, которые получили признание как талантливые преподаватели университетского уровня, рассмотрены современные концепции биохимии в соответствии с изменившейся идеологией этой науки.

В том 3 вошла часть III «Пути передачи информации», ответы на вопросы, решения задач и предметно-именной указатель по материалу томов 1–3, а также принятые сокращения и словарь терминов. Обсуждаются основная догма молекулярной биологии и ее современное понимание, процессы передачи и хранения генетической информации как у бактерий, так и у эукариот (репликация, транскрипция, трансляция, репарация и рекомбинация), строение хромосом, механизмы ферментативных процессов, функции различных РНК в клетке, рибозимы, сплайсинг, альтернативный сплайсинг, процессинг. Подробно описан биосинтез белка, его транспортировка к месту использования и дальнейшее разрушение, регуляция экспрессии генов. В каждой главе (как в томах 1 и 2) приведены примеры из медицины, молекулярной биологии и смежных областей, а также интересные задания и вопросы.

Для студентов биологических, химических и медицинских вузов, а также научных работников.

УДК 578.1
ББК 28.072я73

Учебное издание

Серия: «Лучший зарубежный учебник»

Нельсон Дэвид, Кокс Майкл

ОСНОВЫ БИОХИМИИ ЛЕНИНДЖЕРА

В трех томах

Том 3

ПУТИ ПЕРЕДАЧИ ИНФОРМАЦИИ

Ведущий редактор канд. хим. наук *Т. И. Почкаева*. Редактор канд. биол. наук *Т. Е. Толстихина*
Художник *Н. А. Новак*. Технический редактор *Е. В. Денюкова*. Компьютерная верстка: *Т. Э. Внукова*

Подписано в печать 23.10.14. Формат 84×108/16.

Усл. печ. л. 47,04.

Издательство «БИНОМ. Лаборатория знаний»

125167, Москва, проезд Аэропорта, д. 3

Телефон: (499) 157-5272, e-mail: binom@Lbz.ru, http://www.Lbz.ru

Отпечатано в типографии «БАЛТО принт», Литва

First published in the United States
by W. H. FREEMAN AND COMPANY,
New York

Copyright © 2008 by W. H. Freeman and Company
All rights reserved.

© Перевод на русский язык,
БИНОМ. Лаборатория знаний, 2015



Пути передачи информации

24	Гены и хромосомы	7
25	Метаболизм ДНК	43
26	Метаболизм РНК	105
27	Метаболизм белка	165
28	Регуляция экспрессии генов	229

Третья, заключительная, часть книги посвящена биохимическим механизмам, обеспечивающим процессы передачи наследственной информации и эволюции живых существ.

Какова молекулярная основа генетического материала? Как генетическая информация с высокой точностью передается из поколения в поколение? Как возникают редкие изменения в генетическом материале, которые служат исходным материалом для эволюции? Как генетическая информация превращается в аминокислотные последовательности белковых молекул?

Современное понимание метаболических путей передачи информации сформировалось на стыке генетики, физики и химии — основ современной биохимии. Джеймс Уотсон и Френсис Крик в 1953 г. сформулировали гипотезу двухцепочечной структуры ДНК (см. рис. 8-15 в т. 1). Генетическая теория помогла сформировать концепцию кодирования информации в генах. Выдающиеся открытия в физике позволили установить молекулярную структуру гена. Вклад химии в генетическую теорию состоял в определении состава ДНК. Особая ценность гипотезы Уотсона-Крика заключалась в том, что она смогла обобщить разнообразные наблюдения, полученные в различных областях науки.

Революция в наших представлениях о структуре ДНК неизбежно породила вопросы о функции ДНК. Двухцепочечная структура сама подсказывает механизм копирования ДНК, позволяющий передавать из поколения в поколение закодированную информацию. Открытие матричной и транспортной РНК, а также расшифровка генетического кода позволили понять, как ДНК преобразуется в функциональные белки.

Эти и другие открытия позволили сформулировать основную догму молекулярной биологии, отражающую три главных процесса обработки генетической информации в клетке. Первый процесс — **репликация**, суть которой заключается в копировании ДНК и создании на основе материнской ДНК молекулы дочерней ДНК с идентичной последовательностью. Второй процесс — **транскрипция**, в результате которой часть генетической информации, закодированной в ДНК, превращается в молекулы РНК. Третий процесс — **трансляция**, при которой генетическая информация, закодированная в РНК, переносится на рибосомы, где транслируется в полипептид с определенной последовательностью аминокислот.

Основная догма молекулярной биологии указывает направление передачи информации в



Основная концепция (догма) молекулярной биологии, которая объясняет главные метаболические пути передачи информации — репликацию, транскрипцию и трансляцию. Говорить, что это «догма», не совсем верно. Ведь эта концепция как догма была предложена Френсисом Криком, когда было мало доказательств, подтверждающих выдвинутые идеи, позже ставшие хорошо обоснованной теорией.

клетке: от репликации к транскрипции и трансляции. Термин «догма» не совсем верен и сохранился только по историческим причинам. Он был введен Френсисом Криком в то время, когда существовало мало доказательств, подтверждавших выдвинутые идеи, позже ставшие хорошо обоснованной теорией.

В части III обсуждаются эти и другие процессы, связанные с передачей информации. В главе 24 мы рассмотрим структуру, топологию и упаковку хромосом и генов. Процессы, лежащие в основе догмы, рассматриваются в главах 25–27. В заключение мы рассмотрим процесс регуляции экспрессии генетической информации (глава 28).

Важнейший вопрос, обсуждающийся во всех этих главах, касается сложных процессов биосинтеза информационных макромолекул. Сборка нуклеотидов и аминокислот в определенные последовательности нуклеиновых кислот и белков служит для сохранения и точного копирования матрицы, а ведь на этом основана сама жизнь. Можно подумать, что образование фосфодиэфирных связей в ДНК или пептидных связей в белках — тривиальная задача для клеток, обладающих целым арсеналом ферментативных и химических инструментов, описанных в части II. Однако, чтобы учесть механизмы сохранения и передачи информации, нам придется значительно расширить систему наших взглядов, сформулированную на основе анализа метаболических путей. Химиче-

ские связи должны возникать между конкретными субъединицами информационных биополимеров с минимальной вероятностью появления и закрепления ошибок. Это требование оказывает очень серьезное влияние на термодинамику, химию и энзимологию процессов биосинтеза. Образование пептидной связи требует затраты энергии, примерно равной 21 кДж/моль, и может происходить с участием относительно простых ферментов, выступающих в качестве катализаторов. Но для синтеза связи между двумя определенными аминокислотами в конкретной точке полипептида требуется примерно 125 кДж/моль, причем в этом процессе задействовано более 200 ферментов, молекул РНК и специфических белков. Химический процесс образования пептидной связи тот же самый, но здесь подключаются дополнительные процессы, гарантирующие образование этой связи строго между определенными аминокислотами. Информация стоит дорого.

Еще одна важная тема, затрагиваемая в части III, касается динамического взаимодействия между нуклеиновыми кислотами и белками. За исключением тех редких случаев, когда в роли катализаторов выступают молекулы РНК (эта тема обсуждается в гл. 26 и 27), метаболические процессы, связанные с передачей информации, катализируются и регулируются белками. Изучение этих ферментов и других белков имеет не только научное, но и прикладное значение, поскольку позволяет применять их в технологиях, основанных на рекомбинантных ДНК (см. гл. 9 в т. 1).

И вновь возвратимся к теме эволюции. Многие процессы, рассмотренные в части III, возникли миллиарды лет назад, а некоторые прослеживаются вплоть до последнего универсального общего предшественника — LUCA (от англ. *last universal common ancestor*). Рибосомы, практически весь трансляционный аппарат и некоторые элементы транскрипционного аппарата есть у всех живых организмов на нашей планете. Генетическую информацию можно рассматривать в качестве своеобразных молекулярных часов, которые позволяют установить родственные отношения между видами. Общие информационные пути связывают человека со всеми ныне живущими на Земле организмами, а также со всеми прежде существовавшими видами. Изучение этих путей помогает ученым приоткрыть занавес в первом акте пьесы, повествующей о возникновении жизни на Земле.

Суперскручивание значит для ДНК больше, чем просто силовой фактор; оно сохраняет буйную раскидистую ДНК в узких рамках внутриклеточных условий.

— *Николас Коззарелли, Лекции в Харви, 1993*

Гены и хромосомы

- 24.1. Элементы хромосом 7
- 24.2. Сверхспирализация ДНК 15
- 24.3. Структура хромосом 27

Размер ДНК предлагает нам интересную биологическую загадку, поскольку молекулы ДНК обычно значительно крупнее самих клеток или вирусных частиц (рис. 24-1). Возникает вопрос, как такие крупные молекулы упакованы в клетке. Чтобы ответить на этот вопрос, следует перейти от рассмотрения вторичной структуры ДНК (см. гл. 8) к ее удивительной третичной структуре, лежащей в основе строения **хромосом** — хранилища генетической информации. В начале главы мы рассмотрим основные элементы хромосом, а затем остановимся на обсуждении их размера и организации. Далее мы обратимся к топологии ДНК и обсудим варианты скручивания и суперскручивания молекул. В заключение мы обсудим взаимодействия ДНК с белками, способствующие компактной укладке хромосом.

24.1. Элементы хромосом

Клеточная ДНК содержит гены и межгенные области; и те и другие могут выполнять жизненно важные функции. Более сложные геномы, например геномы эукариот, нуждаются в более слож-

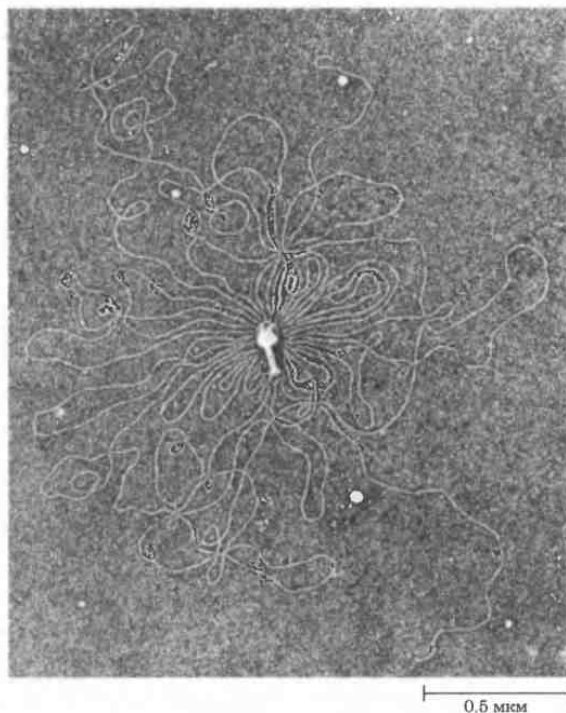


Рис. 24-1. Белковый капсид бактериофага T2 окружает единственную линейную молекулу ДНК этого фага. В результате лизиса частиц бактериофага в дистиллированной воде ДНК вышла из капсида и распространилась по поверхности воды. Частица бактериофага T2 состоит из головки и хвоста, с помощью которого бактериофаг прикрепляется к внешней поверхности бактериальной клетки. Вся ДНК, показанная на этой электронной микрофотографии, обычно содержится внутри головки фага.

ных уровнях организации хромосом. Мы начнем с рассмотрения различных типов последовательностей ДНК и структурных элементов хромосом.

Гены — это участки молекул ДНК, кодирующие полипептиды и молекулы РНК

За последнее столетие наше представление о генах существенно изменилось. Ранее геном называли участок хромосомы, кодирующий или определяющий один признак или **фенотипическое** (видимое) свойство, например цвет глаз. В 1940 г. Джордж Бидл и Эдвард Тейтем предложили молекулярное определение гена. Ученые обрабатывали споры гриба *Neurospora crassa* рентгеновским излучением и другими агентами, вызывающими изменения в последовательности ДНК (**мутации**), и обнаружили мутантные штаммы гриба, утратившие некоторые специфические ферменты, что в некоторых случаях приводило к нарушению целого метаболического пути. Бидл и Тейтем пришли к выводу, что ген — это участок генетического материала, который определяет или кодирует один фермент. Так появилась гипотеза **«один ген — один фермент»**. Позднее эта концепция была расширена до определения **«один ген — один полипептид»**, поскольку многие гены кодируют белки, не являющиеся ферментами, а полипептид может оказаться субъединицей сложного белкового комплекса.

Современное биохимическое определение гена еще более конкретно. Генами называются все участки ДНК, кодирующие первичную последовательность конечных продуктов, к которым относятся полипептиды или РНК, обладающие

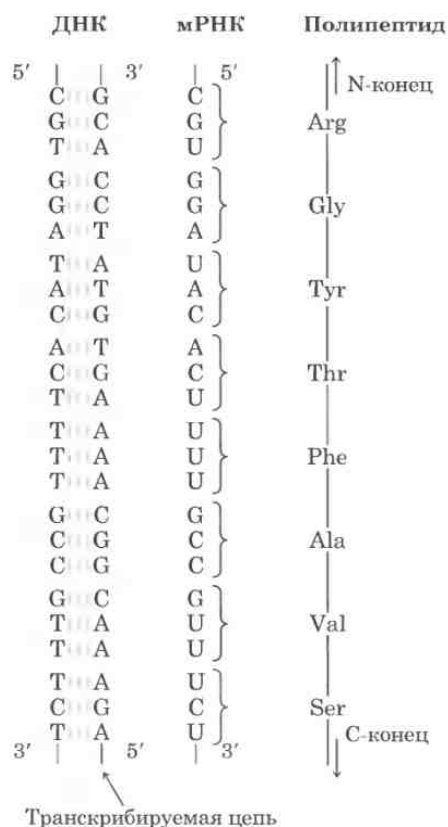


Рис. 24-2. Соответствие между кодирующими участками ДНК, мРНК и аминокислотной последовательностью полипептидной цепи. Триплеты нуклеотидов в ДНК определяют аминокислотную последовательность белка при посредничестве мРНК. Одна из цепей ДНК играет роль матрицы для синтеза мРНК, нуклеотидные триплеты (кодоны) которой комплементарны триплетам ДНК. У некоторых бактерий и многих эукариот кодирующие последовательности прерываются некодирующими участками (так называемыми *интронами*).



Джордж Бидл, 1903–1989



Эдвард Тейтем, 1909–1975

структурной или каталитической функцией. Наряду с генами ДНК содержит и другие последовательности, выполняющие исключительно регуляторную функцию. **Регуляторные последовательности** могут обозначать начало или конец генов, влиять на транскрипцию или указывать место инициации репликации или рекомбинации (гл. 28). Некоторые гены могут экспрессироваться разными путями, при этом один и тот же участок ДНК служит матрицей для образования разных продуктов. Соответствующие механизмы транскрипции и трансляции описаны в гл. 26–28.

Мы можем приблизительно рассчитать минимальный размер гена, кодирующего средний белок. В гл. 27 подробно рассказано о том, что каждая аминокислота в полипептидной цепи кодируется последовательностью из трех нуклеотидов (рис. 24-2); последовательности этих триплетов (кодонов) соответствуют цепочке аминокислот в полипептиде, который кодируется данным геном. Полипептидная цепь из 350 аминокислотных остатков (цепь средней длины) соответствует последовательности из 1050 п. н. Однако многие гены эукариот и некоторые гены прокариот прерываются сегментами ДНК, не несущими информации о белке, и поэтому оказываются значительно длиннее, чем показывает простой расчет.

Сколько генов в одной хромосоме? Хромосома прокариота *Escherichia coli*, чей геном полностью расшифрован, представляет собой кольцевую молекулу ДНК (на самом деле, это не правильный круг, а скорее петля без начала и конца), состоящую из 4 639 675 п. н. В этой последовательности содержится примерно 4300 генов белков и еще 157 генов стабильных молекул РНК. В геноме человека примерно 3,1 млрд пар нуклеотидов, соответствующих почти 29 000 генам, расположенным на 24 разных хромосомах.

Молекулы ДНК гораздо крупнее, чем клеточные или вирусные структуры, в которые они упакованы

Молекулы хромосомной ДНК обычно на много порядков длиннее, чем клетки или вирусные частицы, в которых они содержатся (рис. 24-1; табл. 24-1). Это относится ко всем классам организмов и к вирусам.

Вирусы. Вирусы не могут жить вне другого организма, вне жизнеспособной клетки. Скорее их можно назвать внутриклеточными паразитами, использующими ресурсы клетки хозяина для размножения. Многие вирусные частицы состоят только из генома (обычно одной молекулы РНК или ДНК), окруженного белковым чехлом.

Геномы почти всех вирусов растений и некоторых вирусов бактерий и животных состоят из РНК. Такие геномы обычно небольшого размера. Например, геномы ретровирусов млекопитающих, таких как ВИЧ, содержат около 9000 нуклеотидов, а бактериофаг Q β — 4220 нуклеотидов. Геномы обоих вирусов представляют собой одноцепочечную РНК.

Геномы ДНК-содержащих вирусов намного крупнее (табл. 24-1). Многие молекулы ДНК вирусов какую-то часть жизненного цикла находятся в замкнутой кольцевой форме. При репликации вируса в клетке хозяина могут появляться специфические формы вирусных ДНК, называемые **репликативными формами**; например, многие линейные молекулы ДНК становятся кольцевыми, а одноцепочечные ДНК образуют димеры. Типичным ДНК-содержащим вирусом среднего размера является бактериофаг λ , инфицирующий *E. coli*. Репликативная форма ДНК фага λ внутри клеток представлена кольцевой двухцепочечной спиралью. Двухцепочечная ДНК содержит 48 502 п. н., а длина ее контура составляет 17,5 мкм. Геном бактериофага ϕ X 174 тоже содержит ДНК, но его размер намного меньше; в вирусной частице ДНК представлена одноцепочечной кольцевой молекулой, а двухцепочечная репликативная форма содержит 5386 п. н. Хотя вирусные геномы маленькие, длина их ДНК намного больше, чем размер самих вирусных частиц, содержащих эти молекулы ДНК (табл. 24-1).

Таблица 24-1 Размеры ДНК и вирусных частиц некоторых вирусов бактерий (бактериофагов)

Вирус	Размер вирусной ДНК, п. н.	Длина вирусной ДНК, нм	Длина вирусной частицы, нм
ϕ X 174	5 386	1939	25
T7	39 936	14377	78
λ	48 502	17460	190
T4	168 889	60800	210

Примечание. Размер ДНК указан для репликативной (двухцепочечной) формы. Длину ДНК оценивали, считая размер пары нуклеотидов равным 3,4 Å (см. рис. 8-13 в т. 1).

Бактерии. В одной клетке *E. coli* содержится примерно в 100 раз больше ДНК, чем в частице бактериофага λ . Бактерия *E. coli* имеет одну двухцепочечную кольцевую молекулу ДНК. Она состоит из 4 639 675 п. н. и достигает в длину примерно 1,7 мм, что превышает длину самой клетки *E. coli*

приблизительно в 850 раз (рис. 24-3). Помимо крупной кольцевой хромосомы в составе нуклеоида многие бактерии содержат одну или несколько маленьких кольцевых молекул ДНК, свободно располагающихся в цитозоле. Такие внехромосомные элементы называют **плазмидами**

Рис. 24-3. Хромосома *E. coli* (длиной 1,7 мм) представлена в линейной форме; рядом приведена клетка *E. coli* (2 мкм).

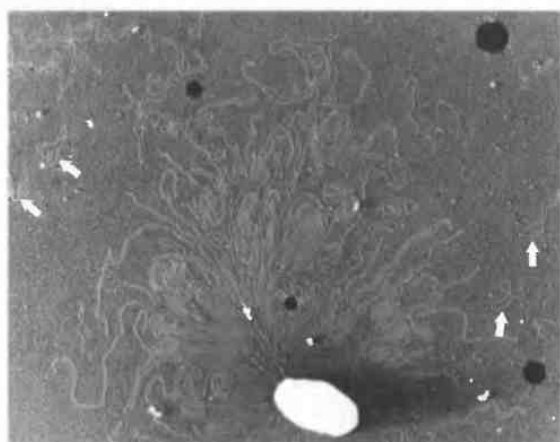
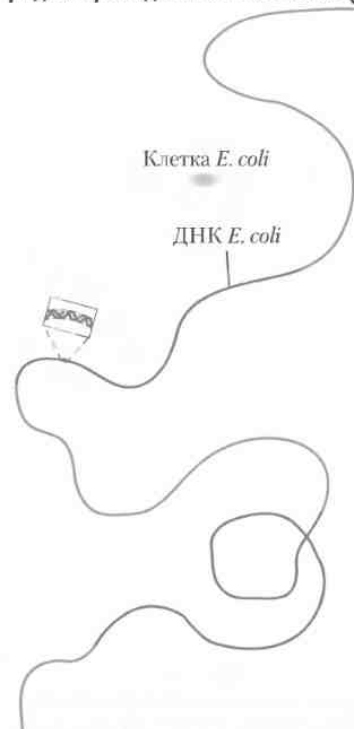


Рис. 24-4. ДНК из лизированной клетки *E. coli*. Белыми стрелками отмечены кольцевые молекулы плазмид. Белые и черные пятна — артефакты.

(рис. 24-4; см. также с. 439 в т. 1). Большинство плазмид состоит всего из нескольких тысяч пар нуклеотидов, некоторые содержат более 10 000 п. н. Они несут генетическую информацию и реплицируются с образованием дочерних плазмид, которые попадают в дочерние клетки в процессе деления родительской клетки. Плазмиды обнаружены не только в бактериях, но также в дрожжах и других грибах.

Во многих случаях плазмиды не дают никаких преимуществ клеткам-хозяевам, и их единственная задача — независимое воспроизведение. Однако некоторые плазмиды несут полезные для хозяина гены. Например, содержащиеся в плазмидах гены могут придавать клеткам бактерий устойчивость к антибактериальным агентам. Плазмиды, несущие ген β -лактамазы, обеспечивают устойчивость к β -лактамам антибиотикам, таким как пенициллин и амоксициллин (см. рис. 6-28 в т. 1). Плазмиды могут переходить от клеток, устойчивых к антибиотикам, к другим клеткам того же или другого вида бактерий, в результате чего эти клетки также становятся резистентными. Интенсивное применение антибиотиков является мощным селективным фактором, способствующим распространению плазмид, кодирующих устойчивость к антибиотикам (а также транспозонов, которые кодируют аналогичные гены) среди болезнетворных бактерий, и приводит к появлению бактериальных штаммов с устойчивостью к нескольким антибиотикам. Врачи начинают понимать опасность широкого использования антибиотиков и назначают их только в случае острой необходимости. По аналогичным причинам ограничивается широкое использование антибиотиков для лечения сельскохозяйственных животных.

Эукариоты. В клетке дрожжей, одних из самых маленьких эукариот, в 2,6 раза больше ДНК, чем в клетке *E. coli* (табл. 24-2). Клетки плодовой мушки *Drosophila*, классического объекта генетических исследований, содержат в 35 раз больше ДНК, а клетки человека — примерно в

700 раз больше ДНК, чем клетки *E. coli*. Многие растения и амфибии содержат еще больше ДНК. Генетический материал клеток эукариот организован в виде хромосом. Диплоидный набор хромосом ($2n$) зависит от вида организма (табл. 24-2). Например, в соматической клетке

Таблица 24-2 ДНК, гены и хромосомы некоторых организмов

	Общая ДНК, п. н.	Число хромосом ^a	Примерное число генов
<i>Escherichia coli</i> (бактерия)	4 639 675	1	4 435
<i>Saccharomyces cerevisiae</i> (дрожжи)	12 080 000	16 ^b	5 860
<i>Caenorhabditis elegans</i> (нематода)	90 269 800	12 ^b	23 000
<i>Arabidopsis thaliana</i> (растение)	119 186 200	10	33 000
<i>Drosophila melanogaster</i> (плодовая мушка)	120 367 260	18	20 000
<i>Oryza sativa</i> (рис)	480 000 000	24	57 000
<i>Mus musculus</i> (мышь)	2 634 266 500	40	27 000
<i>Homo sapiens</i> (человек)	3 070 128 600	46	29 000

Примечание. Информация постоянно обновляется; для получения более свежей информации обратитесь к сайтам, посвященным отдельным геномным проектам.

^a Для всех эукариот, кроме дрожжей, приводится диплоидный набор хромосом.

^b Гаплоидный набор. Дикие штаммы дрожжей обычно имеют восемь (октаплоидный) или больше наборов таких хромосом.

^в Для самок с двумя X хромосомами. У самцов есть X хромосома, но нет Y, т. е. всего 11 хромосом.



человека 46 хромосом (рис. 24-5). Каждая хромосома эукариотической клетки, как показано на рис. 24-5, а, содержит одну очень крупную двухспиральную молекулу ДНК. Двадцать четыре хромосомы человека (22 парные хромосомы и две половые хромосомы X и Y) различаются по длине более чем в 25 раз. Каждая хромосома эукариот содержит определенный набор генов.

Если соединить между собой молекулы ДНК человеческого генома (22 хромосомы и хромосомы X и Y или X и X), получится последователь-

Рис. 24-5. Хромосомы эукариот. а — пара связанных и конденсированных сестринских хроматид из хромосомы человека. В такой форме эукариотические хромосомы пребывают после репликации и в метафазе в процессе митоза. б — полный набор хромосом из лейкоцита одного из авторов книги. В каждой нормальной соматической клетке человека содержится 46 хромосом.

ность длиной около одного метра. Большинство клеток человека диплоидны, поэтому общая длина ДНК таких клеток около 2 м. У взрослого человека примерно 10^{14} клеток, таким образом, общая длина всех молекул ДНК составляет $2 \cdot 10^{11}$ км. Для сравнения, окружность Земли — $4 \cdot 10^4$ км, а расстояние от Земли до Солнца — $1,5 \cdot 10^8$ км. Вот как удивительно компактно упакована ДНК в наших клетках!

В клетках эукариот есть и другие органеллы, содержащие ДНК. — это митохондрии и хлоропласты. Молекулы митохондриальной ДНК (мтДНК) намного меньше ядерных хромосом. Размер двухцепочечных кольцевых мтДНК в клетках животных составляет менее 20 000 п. н. (в митохондриях человека молекула мтДНК состоит из 16 569 п. н.). Каждая митохондрия обычно несет от двух до десяти копий молекул мтДНК: их число может возрасти до сотен в некоторых клетках, например в дифференцирующихся клетках эмбриона. У некоторых организмов (например, трипаносом) каждая митохондрия содержит тысячи копий мтДНК: митохондрии организованы в сложный комплекс, называемый кинетопластом. Размеры мтДНК растительных клеток варьируют от 200 000 до 2 500 000 п. н. Молекулы ДНК хлоропластов (хпДНК) тоже двухцепочечные и кольцевые,



Рис. 24-6. Делящаяся митохондрия. Некоторые митохондриальные белки и молекулы РНК (на фотографии не видны) кодируются одной копией митохондриальной ДНК. Митохондриальная ДНК (мтДНК) реплицируется каждый раз, когда делится митохондрия, что предшествует делению клетки.

их длина колеблется от 120 000 до 160 000 п. н. Выдвигалось множество гипотез относительно происхождения ДНК митохондрий и хлоропластов. Общеизвестная сегодня точка зрения заключается в том, что они представляют собой рудименты хромосом древних бактерий, которые проникли в цитоплазму хозяйских клеток и стали предшественниками этих органелл (см. рис. 1-36 в т. 1). Митохондриальная ДНК кодирует митохондриальные тРНК и рРНК, а также несколько митохондриальных белков. Более 95% митохондриальных белков кодируется ядерной ДНК. Митохондрии и хлоропласты делятся вместе с клетками. ДНК этих органелл реплицируется перед делением клетки и в процессе деления, а затем дочерние молекулы мтДНК попадают в органеллы дочерних клеток.

Гены и хромосомы эукариот очень сложно организованы

У бактерий многих видов всего одна хромосома, и почти во всех случаях в каждой хромосоме присутствует по одной копии каждого гена. Лишь не многие гены, например гены рРНК, содержатся в нескольких копиях. Гены и регуляторные последовательности составляют практически весь геном прокариот. Более того, почти каждый ген строго соответствует аминокислотной последовательности (или последовательности РНК), которую он кодирует (рис. 24-2).

Структурная и функциональная организация генов эукариот гораздо сложнее. Исследование хромосом эукариот, а позднее секвенирование полных последовательностей геномов эукариот принесло много сюрпризов. Многие, если не большинство, генов эукариот обладают интересной особенностью: их нуклеотидные последовательности содержат один или несколько участков ДНК, в которых не кодируется аминокислотная последовательность полипептидного продукта. Такие нетранслируемые вставки нарушают прямое соответствие между нуклеотидной последовательностью гена и аминокислотной последовательностью кодируемого полипептида. Эти нетранслируемые сегменты в составе генов называют **интронами**, или **встроенными последовательностями**, а кодирующие сегменты — **экзонами**. У прокариот лишь немногие гены содержат интроны.

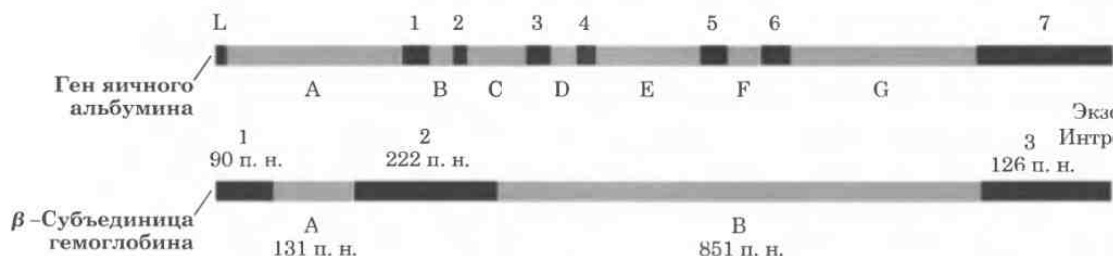


Рис. 24-7. Интроны в двух эукариотических генах. Ген яичного альбумина содержит семь интронов (от А до G), разделяющих кодирующие последовательности восьми экзонов (L, от 1 до 7). Ген β-субъединицы гемоглобина несет два интрона и три экзона, включая один интрон, содержащий более половины пар нуклеотидов данного гена.

В типичных генах высших эукариот последовательности интронов обычно намного длиннее, чем последовательности экзонов. Например, в гене одной полипептидной цепи яичного белка овальбумина (рис. 24-7) интроны намного длиннее экзонов: семь интронов вместе составляют 85% ДНК гена. В гене β-субъединицы гемоглобина более половины ДНК содержится в единственном интроне. Ген мышечного белка титина чемпион по количеству интронов — их 178. В генах гистонов, по-видимому, интронов нет. В большинстве случаев функция интронов не установлена. В целом, лишь около 1,5% ДНК человека являются «кодирующими», т. е. несут информацию о белках или РНК. Однако с учетом крупных интронов получается, что ДНК человека на 30% состоит из генов.

Поскольку гены составляют относительно небольшую долю в геноме человека, значительная часть ДНК остается неучтенной. На рис. 24-8 на круговой диаграмме представлены типы последовательностей в геноме. Большая часть некодирующей ДНК существует в форме повторяющихся последовательностей нескольких типов. Самое удивительное, что примерно половина генома человека состоит из повторяющихся последовательностей подвижных генетических элементов — участков ДНК размером от нескольких сотен до нескольких тысяч пар оснований, которые перемещаются с места на место внутри генома. Эти подвижные генетические элементы (транспозоны) — пример молекулярных паразитов, эффективно расселяющихся внутри генома хозяина. Многие транспозоны

несут гены белков, которые катализируют процесс транспозиции, описанный более подробно в гл. 25 и 26. Некоторые транспозоны в геноме человека активны и перемещаются с небольшой частотой, но большинство являются неактивными реликтами, измененными в результате мутаций в процессе эволюции. Хотя чаще всего такие элементы не кодируют функциональные белки или РНК, они сыграли важную роль в эволюции человека, поскольку перемещение транспозонов привело к перераспределению других геномных последовательностей.

Еще примерно 3% генома человека составляют часто повторяющиеся последовательности, называемые простыми последовательностями ДНК или повторами простых последовательностей (SSR — от англ. *simple sequence repeats*). Эти короткие последовательности размером обычно менее 10 п. н. иногда повторяются в клетке миллионы раз. Простые последовательности ДНК также называют сателлитной ДНК, поскольку при центрифугировании фрагментов клеточной ДНК в градиенте плотности хлорида цезия из-за необычного состава оснований они часто мигрируют в виде отдельных полос (как спутники, «сателлиты»), сопровождающих остальную ДНК. Простые последовательности ДНК не кодируют белки или РНК. Но в отличие от подвижных генетических элементов сателлитная ДНК может выполнять в клетках человека определенные функции, поскольку многие простые последовательности ДНК локализованы в двух специфических участках эукариотических хромосом — в центромере и теломерах.

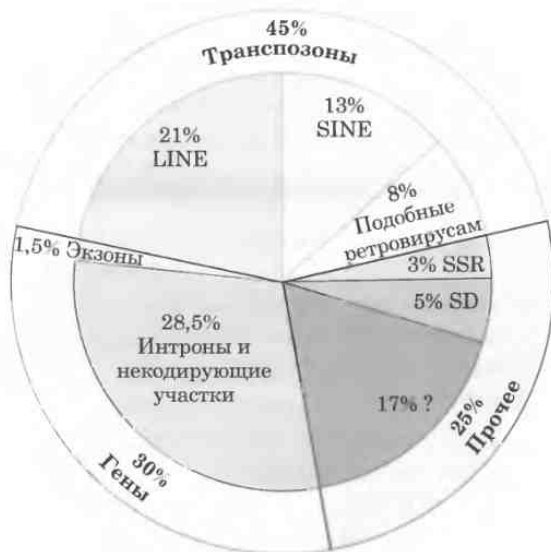


Рис. 24-8. Типы последовательностей в геноме человека. На диаграмме представлены три главные составляющие генома — транспозоны (подвижные генетические элементы), гены и смешанные последовательности. Известно четыре основных класса транспозонов (на диаграмме представлены три из них). Длинные рассеянные повторы (LINE) размером от 6 до 8 т. п. н. (1 т. п. н. = 1000 п. н.) обычно содержат несколько генов белков, катализирующих транспозицию. В геноме насчитывается примерно 850 000 LINE. Длина коротких рассеянных повторов (SINE) примерно от 100 до 300 п. н. В геноме человека их содержится около 1,5 млн, из которых более 1 млн составляют элементы Alu, названные так по той причине, что они обычно содержат один сайт рестрикции для эндонуклеазы рестрикции *AluI* (см. рис. 9-2 в т. 1). В геноме также обнаружено 450 000 копий транспозонов, близких ретровирусам, длиной от 1,5 до 11 т. п. н. Хотя они «захвачены» геномом и не могут перемещаться из клетки в клетку, эволюционно они близки ретровирусам (гл. 26), к которым относится ВИЧ. Еще один класс транспозонов (составляющий <3%, здесь не показан) представлен различающимися по длине фрагментами транспозонов.

Примерно 30% генома составляют последовательности, содержащие гены белков, но только малая часть этой ДНК находится в экзонах (кодирующих последовательностях). К смешанным последовательностям относятся простые короткие повторы (SSR) и повторы крупных сегментов (SD); последние встречаются более чем в одной копии в различных положениях. Как отмечается в гл. 26, почти весь геном в результате транскрипции превращается в последовательность РНК, причем многие участки РНК еще не охарактеризованы. Кроме того, в геноме содержатся остатки транспозонов, которые в процессе эволюции изменились настолько сильно, что их трудно идентифицировать.

Центромера (рис. 24-9) представляет собой последовательность ДНК, к которой в процессе деления клетки прикрепляются белки, связывающие хромосому с митотическим веретеном. Это взаимодействие важно для равномерного и точного разделения наборов хромосом по дочерним клеткам. Были выделены и изучены центромеры *Saccharomyces cerevisiae*. Важнейшие для функционирования центромер последовательности имеют длину около 130 п. н. и содержат большое количество пар А = Т. Центромеры высших эукариот намного длиннее и, в отличие от дрожжевых, обычно содержат простую последовательность ДНК, состоящую из тысяч tandemных копий одной или нескольких коротких последовательностей из 5–10 п. н. в одинаковой ориентации. Роль простых повторов при функционировании центромер пока точно не установлена.

Теломеры (от греч. *telos* — конец) — последовательности на концах хромосом эукариот, стабилизирующие хромосомы. Теломеры заканчиваются многократно повторяющимися последовательностями вида

$$\begin{aligned} (5') (T_x C_y)_n \\ (3') (A_x G_y)_n \end{aligned}$$

где x и y обычно имеют значения от 1 до 4 (табл. 24-3). Число теломерных повторов n у большинства одноклеточных эукариот составляет от 20 до 100, а у млекопитающих, как правило, превышает 1500. Концы линейной молекулы ДНК не могут полностью реплицироваться обычным способом клеточным репликационным аппаратом (возможно, это одна из причин кольцевой структуры ДНК у бактерий). Теломерные повторы присоединяются к концам эукариотических хромосом в основном с помощью фермента теломеразы (см. рис. 26-39).

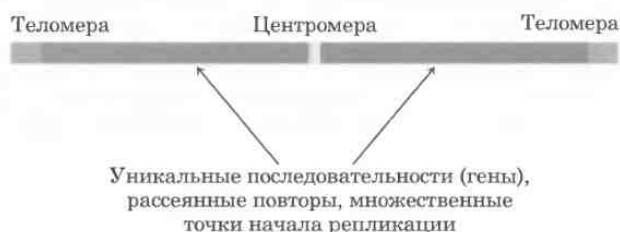


Рис. 24-9. Важные особенности строения хромосомы дрожжей.

Таблица 24-3 Теломерные последовательности

	Последовательность теломерных повторов
<i>Homo sapiens</i> (человек)	(TTAGGG) _n
<i>Tetrahymena thermophila</i> (реснитчатое простейшее)	(TTGGGG) _n
<i>Saccharomyces cerevisiae</i> (дрожжи)	((TG) ₁₋₃ (TG) ₂₋₃) _n
<i>Arabidopsis thaliana</i> (растение)	(TTTAGGG) _n

Для изучения функциональной роли структурных элементов эукариотических хромосом были сконструированы искусственные хромосомы (гл. 9 в т. 1). Для функционирования достаточно стабильной линейной искусственной хромосомы нужны лишь три компонента: центромера, теломеры на каждом конце последовательности и участок, в котором происходит инициация репликации. Искусственные хромосомы дрожжей (YAC; см. рис. 9-7) были созданы как инструмент для биотехнологических исследований. Для лечения генетических заболеваний с помощью соматической генной терапии были разработаны искусственные хромосомы человека (HAC; см. доп. 9-2).

Краткое содержание раздела 24.1 ЭЛЕМЕНТЫ ХРОСОМ

- Ген — участок хромосомы, который несет информацию о функциональном полипептиде или молекуле РНК. Наряду с генами хромосомы содержат разнообразные регуляторные последовательности, участвующие в репликации, транскрипции и других процессах.
- Геномная ДНК и геномная РНК вирусов обычно на несколько порядков длиннее содержащих их клеток или вирусных частиц.
- Многие гены эукариот (но лишь некоторые гены бактерий и архей) прерываются кодирующими последовательностями — интронами. Кодирующие участки, разделенные интронами, называют экзонами.
- Менее трети геномной ДНК человека составляют гены. В остальной ДНК много повторя-

ющихся последовательностей различных типов. Паразитирующие нуклеиновые кислоты, известные как транспозоны, составляют примерно половину генома человека.

- Хромосомы эукариот содержат две важные повторяющиеся последовательности ДНК со специфической функцией: центромеры (участки прикрепления митотического веретена) и теломеры, расположенные на концах хромосом.

24.2. Сверхспирализация ДНК

Клеточная ДНК, как мы видели, чрезвычайно компактна и, следовательно, обладает высокой степенью структурной организации. Механизм укладки служит не только для упаковки

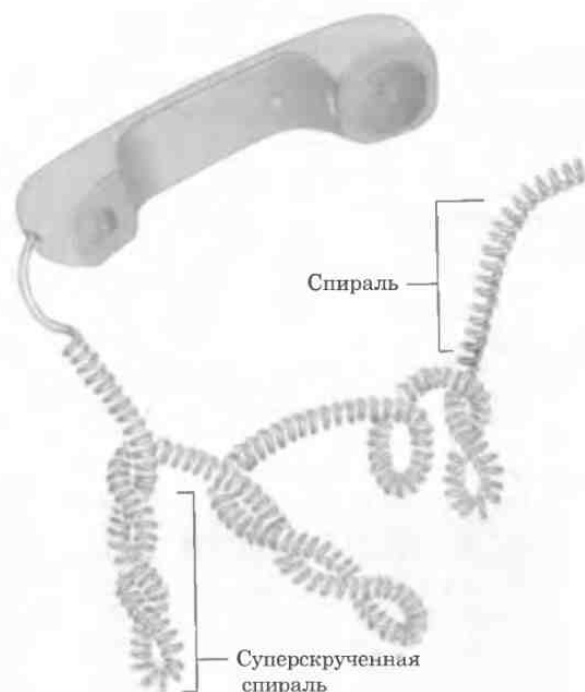


Рис. 24-10. Сверхспирализация. Обычный телефонный шнур закручен в спираль, как ДНК, и сам может образовывать дополнительные петли сверхспирали. Эта аналогия уместна еще и по той причине, что именно телефонный шнур помог Джерому Винограду и его коллегам понять, что многие свойства маленьких кольцевых молекул ДНК могут объясняться суперскручиванием. Впервые они обнаружили явление сверхспирализации ДНК в 1965 г. в образцах маленьких молекул вирусной ДНК.

ДНК, но и для обеспечения доступа к содержащейся в ней информации. Прежде чем рассмотреть работу этого механизма в таких клеточных процессах, как репликация и транскрипция, мы должны обсудить важную структурную особенность ДНК — **сверхспирализацию**.

Сверхспирализация — скручивание уже существующей спирали. Примером такой структуры является скрученный телефонный шнур. На пути между трубкой и аппаратом часто образуется одна или несколько сверхспиралей (рис. 24-10). Молекула ДНК скручена в двойную спираль, в которой обе цепи ДНК закручены вокруг единой оси. Дальнейшее закручивание такой оси вокруг самой себя (рис. 24-11) приводит к образованию сверхспирализованной ДНК. Как мы увидим далее, сверхспирализация обычно является результатом структурного напряжения. Если ДНК не закручена вокруг своей оси, ее называют **релаксированной**.

Логично предположить, что при упаковке ДНК возникают различные варианты сверхспирализации. Менее очевидно, что репликация и транскрипция ДНК тоже влияют на сверхспи-

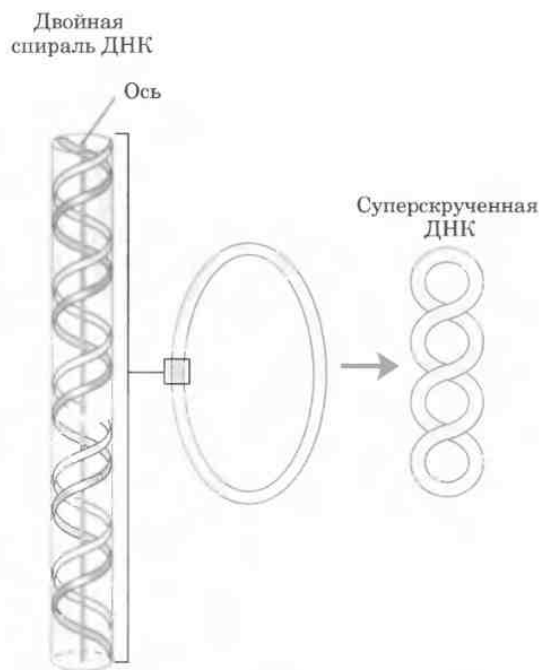


Рис. 24-11. Сверхспирализация ДНК. Когда двойная спираль ДНК закручивается вокруг своей оси, образуется новая спираль (сверхспираль). Суперскрученную ДНК обычно называют сверхспиралью.

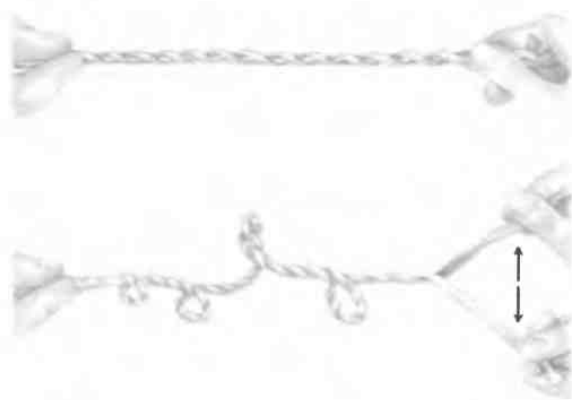


Рис. 24-12. При разделении нитей спиральной структуры происходит сверхспирализация. Закрутите две резинки в правозакрученную двойную спираль, как показано на верхнем рисунке. Попросите кого-нибудь поддержать один конец и попробуйте разделить нить с другого конца. Вы будете наблюдать суперскручивание.

рализацию и сами зависят от нее. Оба процесса связаны с разделением нитей ДНК, способствующим образованию дополнительных витков спирали (как показано на рис. 24-12).

То, что плотно упакованная клеточная ДНК закручивается вокруг самой себя, приобретает сверхспиральную структуру, кажется логичным и даже тривиальным, если бы не одно наблюдение: многие клеточные кольцевые молекулы ДНК остаются в высокой степени суперскрученными даже после того, как их экстрагируют и очищают, освобождая от белков и других клеточных компонентов. Из этого следует, что сверхспирализация — неотъемлемое свойство четвертичной структуры ДНК. Оно характерно для всех молекул клеточной ДНК и строго регулируется каждой клеткой.

Сверхспирали характеризуются несколькими параметрами, которые можно измерить; на основе этих данных были глубже поняты структуру и функции ДНК. Исследования во многом базируются на концепциях **топологии** — одного из разделов математики; топология исследует свойства объекта при непрерывной деформации. В случае ДНК непрерывная деформация включает изменения конформации из-за теплового движения и взаимодействия с белками или другими молекулами; прерывистая деформация приводит к разрыву цепей ДНК. Для кольцевых молекул ДНК топологические свойства — это те свойства, которые не меняются при деформации цепей ДНК до тех пор, пока не возникают разрывы.

Топологические свойства изменяются только в результате разрыва и последующего соединения одной или обеих цепей ДНК.

Теперь рассмотрим фундаментальные свойства и физическую основу сверхспирализации.

Большинство клеточных ДНК раскручены

Чтобы понять суть сверхспирализации, сосредоточимся сначала на свойствах небольших кольцевых молекул ДНК, таких как плазмиды и небольшие ДНК-содержащие вирусы. Если такие молекулы ДНК не имеют разрывов ни в одной из цепей, они называются **замкнутыми кольцевыми молекулами ДНК**. Если форма замкнутой кольцевой ДНК близка по структуре В-форме ДНК (структуре Уотсона–Крика; см. рис. 8-13 в т. 1) с одним оборотом двойной спирали на 10,5 п. н., она скорее релаксирована, чем суперскручена (рис. 24-13). Суперскручивание происходит при некотором напряжении структуры. Очищенная замкнутая кольцевая ДНК редко бывает релаксированной, независимо от ее биологического происхождения. Более того, молекулы ДНК, полученные из определенного клеточного источника, имеют характерную именно для них степень сверхспирализации. Следовательно, ДНК напряжена в такой степени, чтобы в ней возникали супервитки, и это состояние регулируется клеткой.

Практически в любой момент времени напряжения двойной спирали ДНК возникают из-за ее **частичного раскручивания**. Иначе говоря, в ДНК оказывается *меньше* витков

спирали, чем в В-форме. Влияние частичного раскручивания обобщено на рис. 24-14. Участок кольцевой ДНК размером 84 п. н. в релаксированной форме может содержать восемь витков двойной спирали, или один виток на 10,5 п. н. Если один из таких витков удален, получается 84 п. н. : 7 = 12,0 п. н. на виток, т. е. больше, чем 10,5 — величина, характерная для В-ДНК (рис. 24-14, б). Это отклонение от наиболее стабильной формы ДНК приводит к термодинамическому напряжению в молекуле, т. е. к неустойчивой форме ДНК. Отчасти напряжение может быть снято при скручивании ДНК вокруг собственной оси с образованием сверхспирали (рис. 24-14, в; некоторая часть напряжения на участке из 84 п. н. может просто распределяться по раскрученной структуре более крупного фрагмента ДНК). В принципе напряжение может быть компенсировано при разделении двух цепей ДНК на расстоянии около 10 п. н. (рис. 24-14, г). В изолированной замкнутой кольцевой ДНК напряжение, вызванное частичным раскручиванием, обычно в большей степени компенсируется сверхспирализацией, чем при разделении цепей, поскольку скручивание оси ДНК, как правило, требует меньше энергии, чем разрыв водородных связей между парами нуклеотидов. Однако следует отметить, что после частичного раскручивания ДНК *in vivo* ее нити легче разделяются, что позволяет считывать содержащуюся в них информацию.

Каждая клетка активно осуществляет раскручивание своей ДНК с помощью ферментативных процессов (описано ниже), и возникающее в результате напряженное состояние служит для

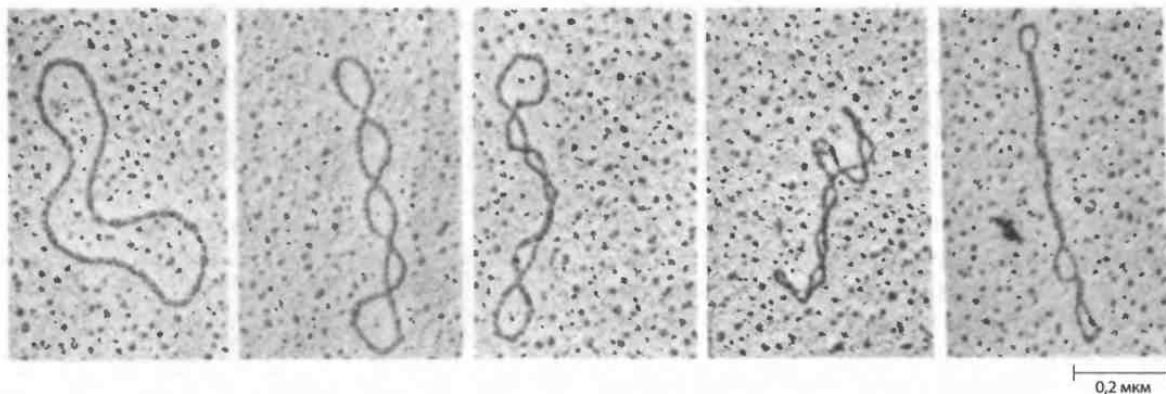


Рис. 24-13. Релаксированная и сверхспирализованная плазмидная ДНК. На крайней левой электронной микрофотографии показана релаксированная молекула; степень сверхспирализации возрастает слева направо.

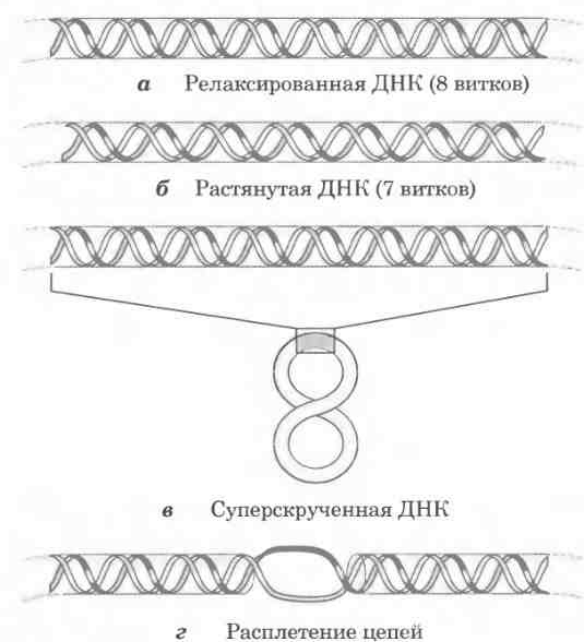


Рис. 24-14. Результаты раскручивания ДНК. а — участок ДНК замкнутой кольцевой молекулы длиной 84 п. н. в релаксированной форме с восемью оборотами спирали. б — удаление одного витка вызывает напряжение структуры. в — обычно напряжение сглаживается при суперскручивании. г — частичное раскручивание ДНК несколько облегчает разъединение цепей. Показано, что теоретически раскручивание на один оборот может облегчить разделение цепей на участке длиной около 10 п. н. Однако обычно разделению нитей на таком коротком участке препятствуют водородные связи между парами нуклеотидов, и эффект становится значимым только для более длинных участков ДНК и более сильного раскручивания.

запасания энергии. Клетки поддерживают ДНК в частично раскрученном состоянии для того, чтобы облегчить ее компактную упаковку. Раскручивание ДНК также важно для функционирования ферментов, участвующих в метаболизме ДНК, которые для выполнения своей задачи должны разделять две нити ДНК.

В таком раскрученном состоянии ДНК может существовать лишь в том случае, если она замкнута в кольцо или связана и стабилизирована белками таким образом, что цепи не могут свободно вращаться относительно друг друга. Если одна из цепей в изолированной, свободной от белка кольцевой ДНК разорвана, в этой точке спонтанно возникает свободное вращение и раскрученная ДНК переходит в релаксированное состояние. В мо-

лекуле замкнутой кольцевой ДНК число витков спирали нельзя изменить без хотя бы временного разрыва одной из цепей ДНК. По этой причине число витков спирали в молекуле ДНК является характеристикой сверхспирализации.

Степень скручивания ДНК

определяется топологическим параметром — порядком зацепления

Топология предлагает некоторые концепции, которые помогут нам в обсуждении сверхспирализации ДНК, в частности концепцию **порядка зацепления**. Порядок зацепления — топологическое свойство двухцепочечной ДНК, поскольку оно не изменяется при сгибании или деформации ДНК до тех пор, пока целы обе цепи. Число зацеплений обозначают как Lk — от англ. *linking number* (рис. 24-15).

Давайте рассмотрим процесс разделения цепей двухцепочечной кольцевой ДНК. Если две цепи связаны так, как показано на рис. 24-15, а, их прочную связь можно назвать топологической связью. Даже если разрушаются все водородные связи и стэкинговые взаимодействия между основаниями, так что нарушается физический контакт между цепями, они по-прежнему

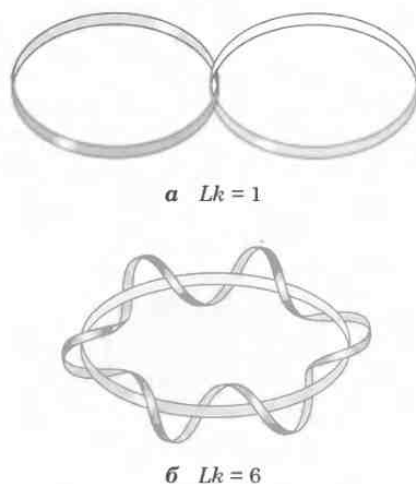


Рис. 24-15. Порядок зацепления (Lk). Здесь, как обычно, каждая голубая лента обозначает одну из цепей двухцепочечной ДНК. Для молекулы на рис. а $Lk = 1$, для молекулы на рис. б $Lk = 6$. Одна из нитей на рис. б изображена незакрученной, чтобы яснее показать границу воображаемой поверхности (бледно-голубого цвета). Число пересечений данной поверхности спиральной нитью соответствует порядку зацепления.

остаются связанными топологическим образом. Представим себе, что одна из кольцевых цепей ограничивает некую поверхность (например, такую, как поверхность мыльной пленки внутри кольца перед тем, как из него выдувают мыльный пузырь). Порядок зацепления можно определить как число пересечений этой поверхности второй цепью. В молекуле на рис. 24-15, *a* $Lk = 1$; в молекуле на рис. 24-15, *б* $Lk = 6$. Для замкнутой кольцевой ДНК порядок зацепления всегда описывается целым числом. Принято, что в правозакрученной спирали порядок зацепления — положительное число (+), а в левозакрученной спирали — отрицательное (−). В ДНК отрицательный порядок зацепления не встречается.

Применим эти рассуждения к молекуле замкнутой кольцевой ДНК, состоящей из 2100 п. н. (рис. 24-16, *a*). Когда молекула релаксирована, порядок зацепления найти просто: это отношению числа всех пар оснований к числу пар оснований, приходящихся на один оборот спирали (примерно 10,5 п.н.); следовательно, в данном случае $Lk = 200$. Чтобы кольцевая молекула ДНК могла быть характеризована определенным порядком зацепления, ни одна из ее цепей не должна содержать разрывов. Если хоть в одной цепи есть разрыв, спирали можно полностью разделить на две цепи. В этом случае топологические связи отсутствуют, и Lk нельзя определить (рис. 24-16, *б*).

Теперь мы можем описать скрученность ДНК, оперируя изменением порядка зацепления. За точку отсчета принимают порядок зацепления в релаксированной ДНК, Lk_0 . Для молекулы на рис. 24-16, *a*, $Lk_0 = 200$; если из молекулы удалить два витка, $Lk = 198$.

$$\begin{aligned}\Delta Lk &= Lk - Lk_0 & (24-1) \\ \Delta Lk &= 198 - 200 = -2\end{aligned}$$

Обычно удобно выражать изменение порядка зацепления через параметр, не зависящий от длины молекулы ДНК. Этот параметр называют **плотностью сверхспирализации** (σ), или **специфическим изменением порядка зацепления**; плотность сверхспирализации равна отношению изменения числа витков спирали к их числу в релаксированной ДНК:

$$\sigma = \Delta Lk / Lk_0 \quad (24-2)$$

В примере на рис. 24-16, *в* $\sigma = -0,01$; это означает, что удален 1% (2 из 200) витков спирали

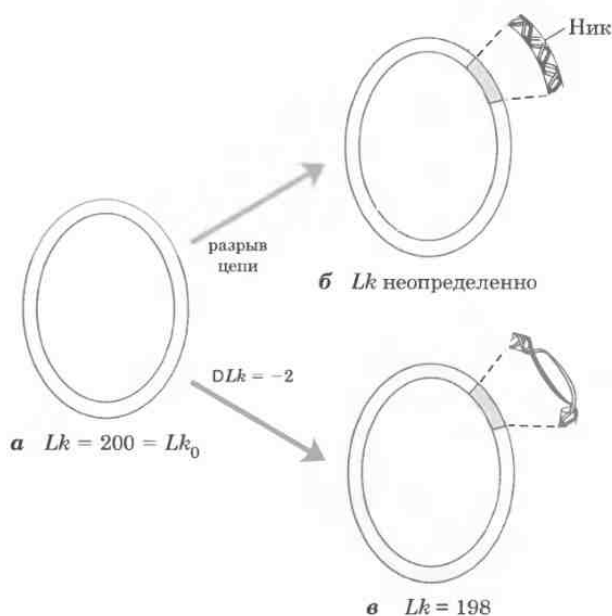


Рис. 24-16. Порядок зацепления на примере молекул замкнутой кольцевой ДНК. Кольцевая ДНК размером 2100 п. н. показана в трех формах: *a* — релаксированная, $Lk = 200$; *б* — релаксированная с одноцепочечным разрывом (ником), Lk нельзя определить; *в* — частично, на два витка, раскрученная ДНК, $Lk = 198$. Частично раскрученная молекула обычно существует в суперскрученном состоянии, но частичное раскручивание также может облегчить разъединения цепей ДНК.

в ДНК (в В-форме). Обычно степень раскручивания клеточной ДНК составляет 5–7%; т. е. σ от $-0,05$ до $-0,07$. Отрицательное значение показывает, что изменение порядка зацепления связано с раскручиванием ДНК. Таким образом, сверхспирализация, вызванная частичным раскручиванием, — это отрицательная сверхспирализация. И, наоборот, при некоторых обстоятельствах ДНК может быть перекручена, что выражается положительным значением сверхспирализации. Отметим, что в случае, когда ДНК частично расплетена (отрицательная сверхспирализация), закрученная вокруг оси часть спирали ДНК является зеркальным отражением перекрученной спирали ДНК (положительная сверхспирализация) (рис. 24-17). Сверхспирализация не случайный процесс; характер сверхспирализации по большей части описывается деформацией кручения, возникающей в ДНК при уменьшении или увеличении порядка зацепления по сравнению с В-формой ДНК.

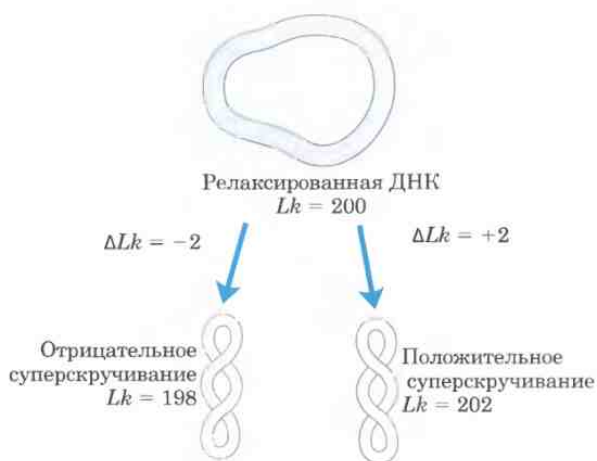


Рис. 24-17. Отрицательная и положительная сверхспирализация. Для релаксированной молекулы ДНК, показанной на рис. 24-16, а, частичное раскручивание или перекручивание на два оборота спирали ($Lk = 198$ или 202) приводит к отрицательной или положительной сверхспирализации, соответственно. Заметьте, что ось спирали ДНК и в том и в другом случаях закручивается в противоположных направлениях.

Порядок зацепления может изменяться на ± 1 при разрыве одной цепи ДНК, поворота одного из концов на 360° вокруг второй цепи и соединения разорванных концов. Такое изменение не влияет на число пар нуклеотидов или число атомов в кольцевой молекуле ДНК. Две формы кольцевой ДНК, отличающиеся только таким топологическим свойством, как порядок зацепления, называются **топоизомерами**.

Пример 24-1 ОПРЕДЕЛЕНИЕ ПЛОТНОСТИ СВЕРХСПИРАЛИЗАЦИИ

Какова плотность сверхспирализации σ замкнутой кольцевой молекулы ДНК длиной 4200 п. н., для которой порядок зацепления $Lk = 374$? Какова плотность сверхспирализации ДНК той же длины при $Lk = 412$? Сверхвитки этих молекул положительны или отрицательны?

Решение. Найдем Lk_0 . Для этого длину кольцевой ДНК (в п. н.) делим на 10,5 п. н./виток: $(4200 \text{ п. н.}) / (10,5 \text{ п. н. / виток}) = 400$. Теперь по формуле 24-1 можно найти ΔLk : $\Delta Lk = Lk - Lk_0 = 374 - 400 = -26$. Подставим значения ΔLk и Lk_0 в формулу 24-2: $\sigma = \Delta Lk / Lk_0 = -26 / 400 = -0,065$.

Поскольку сверхспирализация отрицательная, молекула ДНК несет отрицательные сверхвитки.

Если для той же молекулы ДНК $Lk = 412$, $\Delta Lk = 412 - 400 = 12$, следовательно, $\sigma = 12 / 400 = 0,03$. Сверхспирализация положительная, молекула ДНК несет положительные сверхвитки.

Порядок зацепления имеет две структурные составляющие — **кручение** (коэффициент закрученности; Tw — от англ. *twist*) и **райзинг** (изгиб; Wr — от англ. *writhe*) (рис. 24-18). Их гораздо труднее описать, чем порядок зацепления, но кручение можно рассматривать как меру скручивания (число витков) оси спирали, а райзинг как меру локального изгиба или пространственной связи соседних пар оснований (число сверхвитков). При изменении порядка зацепления часть возникающего напряжения обычно компенсируется при закручивании (сверхспирализации) и изгибе, что выражается уравнением:

$$Lk = Tw + Wr$$

Параметры Tw и Wr не обязательно целочисленные. Кручение и райзинг имеют скорее геометрическую, чем топологическую природу, поскольку изменяются при деформации замкнутой кольцевой молекулы ДНК.

Частичное раскручивание ДНК способствует сверхспирализации и в определенной мере



Рис. 24-18. Кручение и райзинг на модели резинового шнура. Розовый резиновый шнур изображает ось релаксированной молекулы ДНК. Напряжение, возникающее при закручивании резинки (как при частичном раскручивании ДНК), проявляется в виде кручения или райзинга. Топологические изменения порядка зацепления обычно сопровождаются изменением как кручения, так и райзинга.

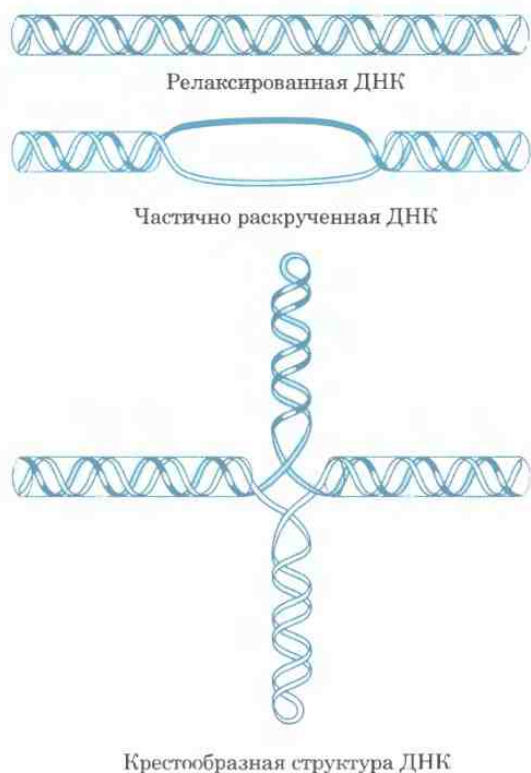


Рис. 24-19. Облегчение образования крестообразных структур при частичном раскручивании ДНК. В принципе, крестообразные структуры могут формироваться на палиндромных последовательностях (см. рис. 8-19 в т. 1), но они редко возникают в релаксированной ДНК, поскольку в линейной ДНК размещается больше пар оснований, чем в крестообразных структурах. Частичное раскручивание ДНК облегчает разделение цепей и формирование крестообразной структуры на соответствующих участках последовательности.

упрощает разъединение цепей, а также облегчает ряд структурных изменений в молекуле. Физиологическое значение этих изменений не столь велико, но они помогают проиллюстрировать последствия частичного раскручивания. Напомним, что крестообразная структура (см. рис. 8-19 в т. 1) обычно содержит несколько неспаренных оснований, и именно недостаточная скрученность ДНК помогает сохранять разделение нитей (**рис. 24-19**). Частичное раскручивание правозакрученной спирали ДНК также облегчает образование коротких отрезков левозакрученной Z-ДНК в тех местах, где последовательность нуклеотидов позволяет реализовать эту форму (гл. 8).

Топоизомеразы катализируют изменение порядка зацепления в ДНК

Сверхспирализация ДНК — строго регулируемый процесс, который влияет на разные аспекты метаболизма ДНК. В каждой клетке есть ферменты, функция которых заключается исключительно в частичном раскручивании и/или релаксации

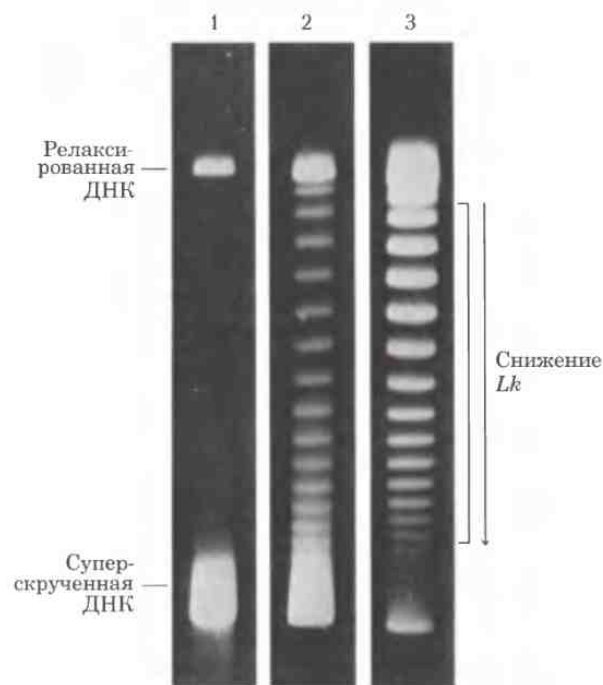
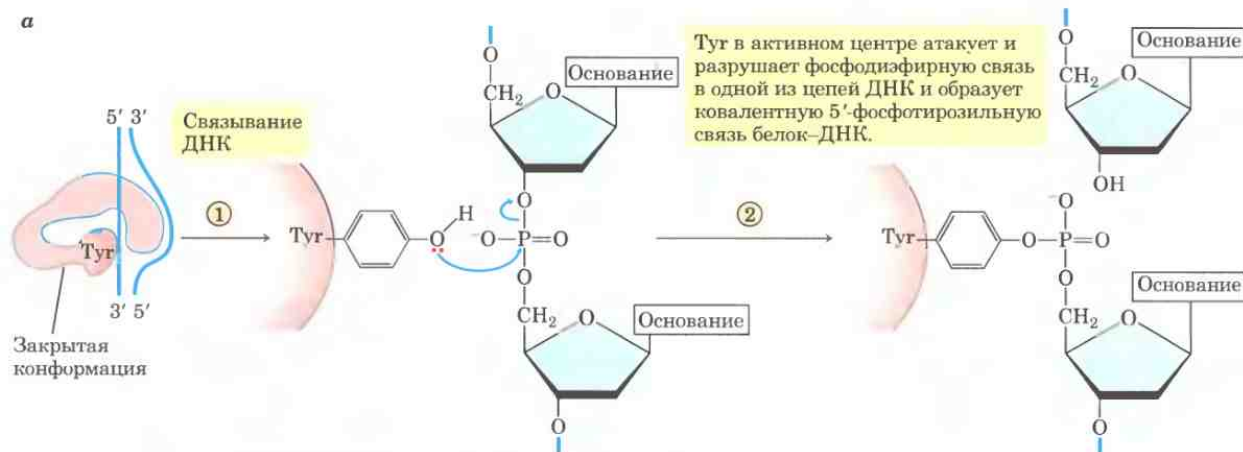
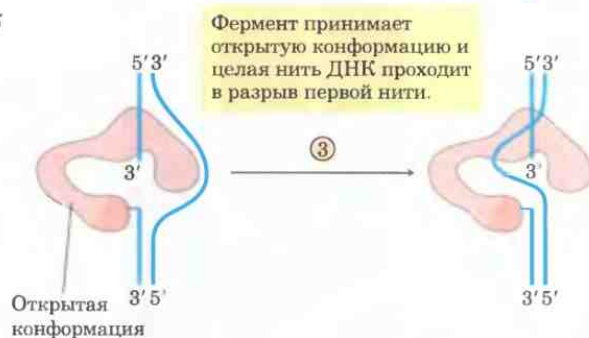


Рис. 24-20. Обнаружение топоизомеров. В этом эксперименте все молекулы ДНК содержат одинаковое число пар оснований, но отличаются по степени сверхспирализации. Поскольку молекулы сверхспирализованной ДНК компактнее, чем релаксированные молекулы, они движутся быстрее при электрофорезе в геле. На представленных гелях разделены топоизомеры с близкими значениями плотности сверхспирализации (молекулы движутся сверху вниз). На дорожке 1 сильно сверхспирализованная ДНК движется в виде единой полосы, хотя, возможно, в ДНК присутствуют разные топоизомеры. На дорожках 2 и 3 видны результаты обработки сверхспирализованной ДНК топоизомеразой типа I; ДНК на дорожке 3 подвергалась воздействию фермента дольше, чем ДНК на дорожке 2. Когда плотность сверхспирализации снижается до значения, начиная с которого гель способен разделять отдельные топоизомеры, становятся видны дискретные полосы. В каждой полосе, выделенной скобкой справа от дорожки 3, содержатся кольцевые молекулы ДНК с одинаковым порядком зацепления; для двух соседних полос порядок зацепления различается на единицу.

а



б



в

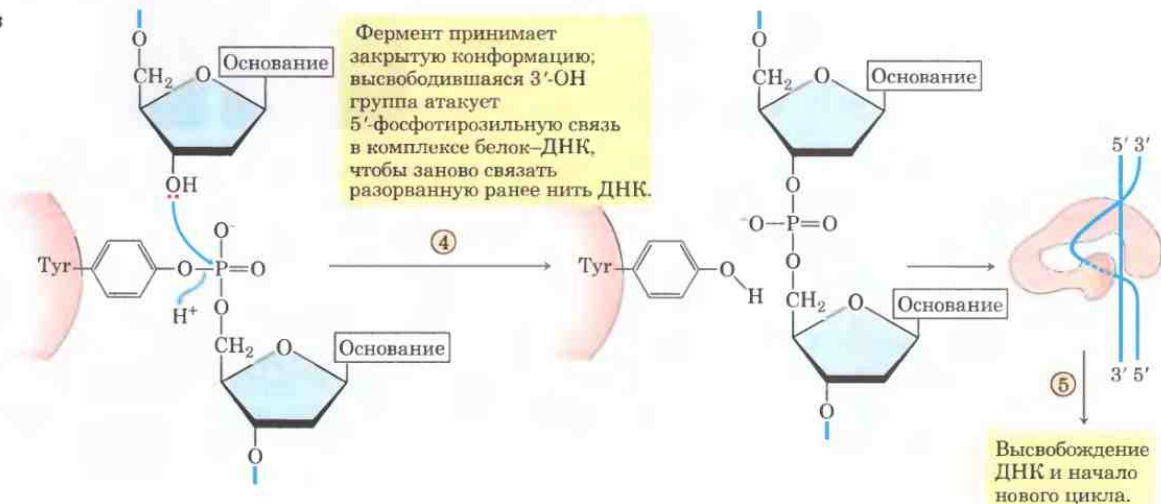


Рис. 24-21. МЕХАНИЗМ РЕАКЦИИ. Бактериальные топоизомеразы типа I изменяют порядок зацепления. Показана последовательность реакций топоизомеразы типа I. Фермент может находиться в закрытой и открытой конформации. а — молекула ДНК связывается с ферментом в закрытой конформации, и одна цепь ДНК разрезается. б — фермент переходит в открытую конформацию, и вторая цепь ДНК проникает через разрыв в первой цепи. в — фермент находится в закрытой конформации, цепь ДНК восстанавливается.

ДНК. Ферменты, повышающие или понижающие степень частичного раскручивания ДНК, называются **топоизомеразами**; они изменяют порядок зацепления в ДНК. Особенно важную роль эти ферменты играют в процессах репликации и упаковки ДНК. Существует два класса топоизомераз. **Топоизомеразы I типа** на короткое время разрывают одну из двух цепей ДНК, затем пропускают целую цепь сквозь разрыв и соединяют разорванные концы; они изменяют Lk с шагом в 1. **Топоизомеразы II типа** разрывают обе нити ДНК и изменяют Lk с шагом в 2.

Действие этих ферментов можно продемонстрировать с помощью электрофореза в агарозном геле (рис. 24-20). Группа идентичных плазмид

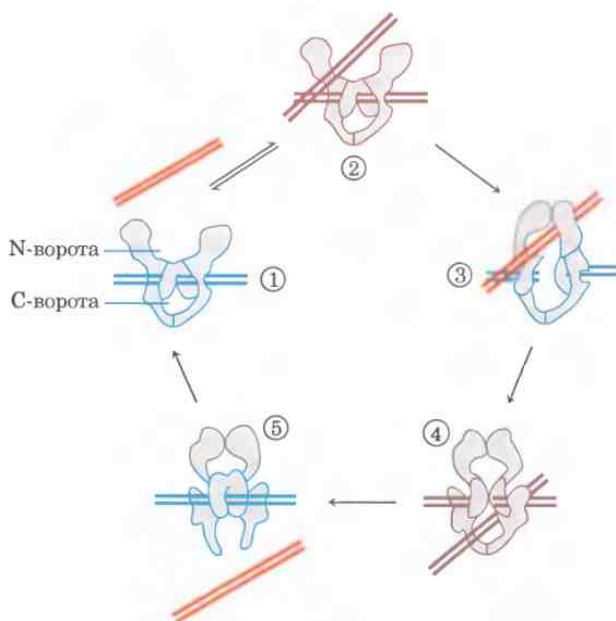


Рис. 24-22. Возможный механизм изменения порядка зацепления под действием эукариотических топоизомераз типа IIα. ① Фермент, состоящий из многих субъединиц, связывает одну молекулу ДНК (синие полосы). Раскрытые полости выше и ниже связанной ДНК называются N- и C-воротами. ② Второй сегмент той же молекулы ДНК (красные полосы) связывается в N-воротах и оказывается запертым ③. Обе цепи первого сегмента ДНК расщепляются (механизм этой реакции аналогичен механизму, изображенному на рис. 24-20, б), и ④ второй сегмент ДНК проходит сквозь разрыв. ⑤ Разорванная ДНК восстанавливается, и второй сегмент ДНК высвобождается через C-ворота. В ходе данного цикла связываются и гидролизуются две молекулы АТФ; одна молекула АТФ, вероятно, гидролизуется на стадии образования комплекса на этапе ④. Остальные подробности гидролиза АТФ в данной реакции еще предстоит установить.

с одинаковым порядком зацепления движется в геле в виде дискретных полос. Метод позволяет разделить топоизомеры со значениями Lk , различающимися всего на 1, и обнаружить изменения порядка зацепления, вызванные топоизомеразами.

Клетки *E. coli* имеют не менее четырех разных топоизомераз (от I до IV). Топоизомеразы типа I (топоизомеразы I и III) обычно релаксируют ДНК, удаляя отрицательные сверхвитки (повышают Lk). Механизм, с помощью которого бактериальные топоизомеразы типа I изменяют порядок зацепления, показан на рис. 24-21. Бактериальный фермент типа II (топоизомераза типа II, или ДНК-гираза) может вызвать отрицательное суперскручивание (уменьшает Lk). Этот фермент для осуществления реакции использует энергию АТФ. Для изменения порядка зацепления ДНК топоизомеразы типа II разрывают обе цепи молекулы ДНК и пропускают в образовавшуюся брешь другой дуплекс. Степень сверхспирализации бактериальной ДНК поддерживается путем регуляции суммарной активности топоизомераз I и II.

В эукариотических клетках тоже есть топоизомеразы типов I и II. Топоизомеразы I и III — ферменты типа I, а единственный фермент типа II у позвоночных присутствует в двух изоформах — IIα и IIβ. Большинство топоизомераз типа II, включая ДНК-гирazu архей, похожи и принадлежат к одному семейству — к типу IIα. У архей, кроме того, есть необычные топоизомеразы IV, составляющие семейство типа IIβ. Эукариотические топоизомеразы типа II не могут частично раскручивать ДНК (формировать отрицательные сверхвитки), но могут релаксировать как положительное, так и отрицательное суперскручивание (рис. 24-22).

Как мы увидим в следующих главах, топоизомеразы играют ключевую роль в метаболизме ДНК, поэтому они важные мишени лекарств, предназначенных для борьбы с бактериальными инфекциями и новообразованиями (доп. 24-1).

Для компактной упаковки ДНК нужна особая форма сверхспирализации

У молекул сверхспирализованной ДНК есть несколько общих признаков. В молекуле с отрицательной сверхспирализацией сверхвитки закручены вправо (рис. 24-17) и легче образуют

не компактные, а тонкие и длинные петли, часто с множеством ответвлений (рис. 24-23). При характерной для клетки плотности сверхспирализации длина суперскрученных участков с учетом ответвлений составляет примерно 40% длины ДНК. Такой тип сверхспирализации называется **плектонемическим** (от греч. *plektos* — закрученный и *nema* — нить). Этим термином можно обо-

значить любую структуру с нитями, перекрученными неким простым и регулярным образом, и он хорошо объясняет общую структуру сверхспирализованной ДНК в растворе.

Плектонемическая сверхспирализация, а именно в такой форме выделяется ДНК в лабораторных условиях, недостаточно компактна для упаковки ДНК в клетке. В другой сверх-

Дополнение 24-1



МЕДИЦИНА

Лечение заболеваний путем ингибирования топоизомераз

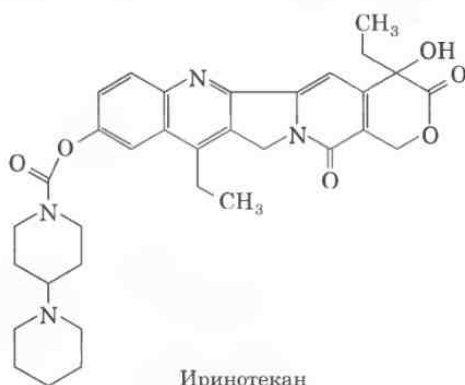
Топология клеточной ДНК непосредственно связана с ее функцией. Без помощи топоизомераз клетки не могут реплицировать и упаковывать свою ДНК и экспрессировать гены и поэтому погибают. Следовательно, ингибиторы топоизомераз могут стать важными фармацевтическими средствами для борьбы с инфицирующими агентами и злокачественными клетками.

В качестве антибиотиков используются два класса ингибиторов бактериальных топоизомераз. Кумарины, среди которых можно назвать новобионин и кумермицин А1, представляют собой природные продукты, выделяемые из стрептомицетов. Они ингибируют связывание АТФ бактериальными топоизомеразами типа II, ДНК-гиразой и топоизомеразой IV. Эти антибиотики довольно редко используются для лечения инфекционных заболеваний человека, однако поиск эффективных антибиотиков такого рода для клинического применения продолжается.

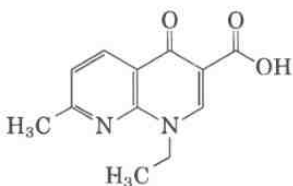
Антибиотики хинолонового ряда, которые также ингибируют бактериальную ДНК-гиразу и топоизомеразу IV, впервые вошли в медицинскую практику в 1962 г., когда начала применяться налидиксовая кислота. Это вещество обладает ограниченной эффективностью и в США уже не применяется в клинической практике, однако активное изучение данного класса веществ привело к появлению фторхинолонов, примером которых может служить ципрофлоксацин (ципро). Действие хинолонов основано на ингибировании по-

следней стадии топоизомеразной реакции, заключающейся в устранении разрывов в нитях ДНК. Ципрофлоксацин — антибиотик широкого спектра действия. Это один из немногих препаратов, который эффективен против возбудителей сибирской язвы и рассматривается в качестве мощного средства защиты от биологического оружия. Хинолоны действуют исключительно на бактериальные топоизомеразы, а ингибирование эукариотических ферментов начинается при концентрации на несколько порядков выше терапевтической дозы.

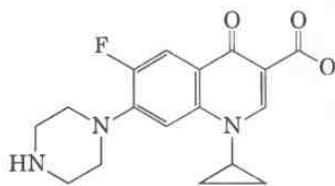
Среди наиболее мощных химиотерапевтических препаратов для лечения онкологических больных есть ингибиторы топоизомераз человека. В опухолевых клетках обычно наблюдается повышенная концентрация топоизомераз, поэтому препараты, ингибирующие



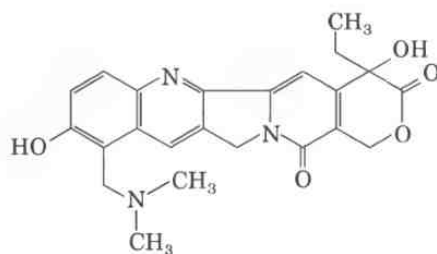
Иринотекан



Налидиксовая кислота



Ципрофлоксацин



Топотекан

спиральной форме, так называемой **соленоидной** форме (рис. 24-24), может существовать частично раскрученная ДНК. В отличие от вытянутой правозакрученной плектонемической формы сверхспирали для соленоидной формы характерны плотные левозакрученные петли. Эта структура напоминает по форме садовый шланг, аккуратно намотанный на катушку. Хотя

плектонемическая и соленоидная формы сверхспирали принципиально отличаются по структуре, обе эти формы отрицательной сверхспирализации могут возникнуть *на одном и том же* участке частично раскрученной ДНК и могут переходить друг в друга. Плектонемическая форма более стабильна в растворе, соленоидная стабилизируется белками и встречается внутри

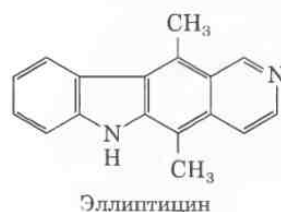
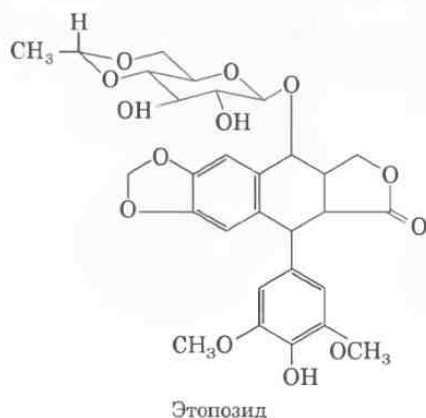
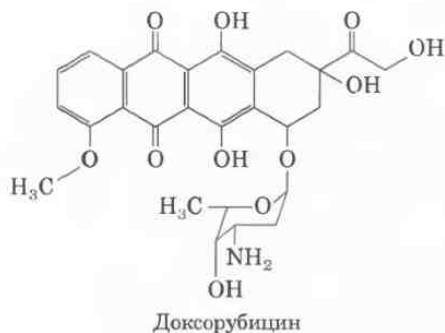
активность этих ферментов, гораздо более токсичны для опухолей, чем для здоровых тканей. В качестве противоопухолевых препаратов используются ингибиторы топоизомераз типа I и II.

Камитотексин, выделенный из декоративного китайского растения и впервые испытанный в клинической практике в 1970-х гг., ингибирует эукариотическую топоизомеразу типа I. Клинические испытания выявили ограниченную эффективность препарата, хотя в доклинических испытаниях на мышах препарат показал хорошие результаты. Однако позднее, в 1990-х гг., были созданы два эффективных производных этого

вещества — иринотекан (камитто) и топотекан (гикамтин), применяемые для лечения больных раком прямой и толстой кишки и раком яичников соответственно. Возможно, в ближайшее время будут выпущены другие родственные препараты. Все лекарства этой группы действуют за счет связывания комплекса топоизомеразы с ДНК, в котором ДНК находится в расщепленном состоянии, и ингибируют лигирование.

Целый ряд противоопухолевых препаратов действует на человеческие топоизомеразы типа II; среди них можно назвать доксорубин (адриамицин), этопозид (этопозифос) и эллиптицин. Доксорубин, относящийся к классу антрациклинов, эффективен против нескольких видов рака. Большинство препаратов этой группы стабилизируют ковалентные связи в комплексе между топоизомеразой и расщепленной ДНК.

Обычно все перечисленные противоопухолевые препараты повышают количество повреждений ДНК в быстро растущих опухолевых тканях. Однако, к сожалению, могут затрагиваться и здоровые ткани, что приводит к общему токсическому эффекту и нежелательному побочному действию, с которым приходится бороться в ходе курса химиотерапии. По мере повышения эффективности противоопухолевой терапии и улучшения прогноза для онкологических больных на передний план выступает проблема появления новых независимых опухолей. По-видимому, топоизомеразы останутся одним из интенсивно изучаемых объектов в поиске новых лекарственных препаратов для борьбы с раком.



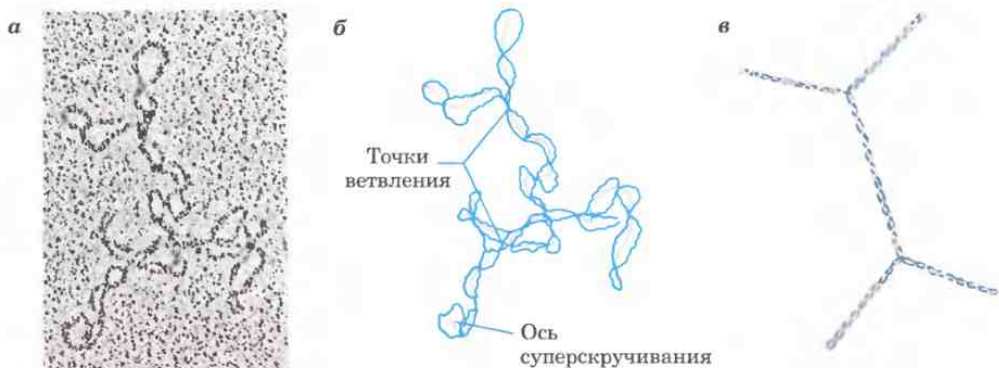


Рис. 24-23. Плектонемическая сверхспирализация. *а* — электронная микрофотография плектонемической сверхспирализованной плазмидной ДНК; *б* — интерпретация наблюдаемой картины; фиолетовыми линиями обозначены оси сверхвитков; обратите внимание на разветвления спирали. *в* — упрощенный вид данной структуры.

хроматина. ДНК в этой форме гораздо более компактна (рис. 24-24. б). Соленоидная сверхспирализация — механизм, с помощью которого частичное раскручивание вносит свой вклад в компактную упаковку ДНК.

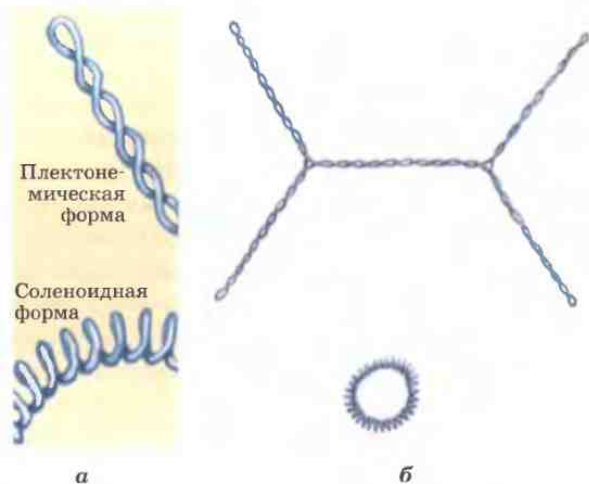


Рис. 24-24. Плектонемическая и соленоидная формы сверхспирали. *а* — в плектонемической сверхспирали ДНК имеет форму протяженных правозакрученных витков. В соленоидной отрицательной сверхспирали эта молекула по форме напоминает трубку из плотных левозакрученных витков. Обе формы могут переходить друг в друга, хотя соленоидная форма обычно не реализуется, пока ДНК не связывается с определенными белками. *б* — плектонемическая (верхняя) и соленоидная формы сверхспирали одной и той же молекулы ДНК различаются по размеру. ДНК в соленоидной форме гораздо компактнее.

Краткое содержание раздела 24.2 СВЕРХСПИРАЛИЗАЦИЯ ДНК

- Большая часть ДНК в клетке образует сверхспираль. При частичном раскручивании уменьшается общее число витков спирали ДНК по сравнению с релаксированной В-формой. Для поддержания состояния частичного раскручивания ДНК должна быть замкнута в кольцо или связана с белком. Частичное раскручивание количественно оценивается с помощью такого топологического параметра, как порядок зацепления Lk .
- Частичное раскручивание измеряют с помощью плотности сверхспирализации σ (специфического изменения зацеплений), которое выражается как $(Lk - Lk_0) / Lk_0$. Для клеточной ДНК величина σ обычно составляет от $-0,05$ до $-0,07$, это означает, что в ДНК не хватает от 5% до 7% витков. Частичное раскручивание ДНК облегчает разделение цепей ферментами метаболизма ДНК.
- Молекулы ДНК, отличающиеся только порядком зацепления, называются топоизомерами. Ферменты, обеспечивающие частичное раскручивание или релаксацию ДНК, называются топоизомеразами; они катализируют изменение порядка зацепления. Топоизомеразы типа I и II за один акт катализа изменяют Lk на одну или две единицы соответственно.

24.3. Структура хромосом

Хромосомами называют молекулы нуклеиновых кислот, которые служат хранилищем генетической информации у вирусов, бактерий, клеток прокариот или органелл эукариот. Этот термин также относится к интенсивно окрашиваемым тельцам, которые видны в световой микроскоп, после обработки красителями в ядрах эукариотических клеток.

Хроматин состоит из ДНК и белков

В клеточном цикле эукариот (см. рис. 12-43 в т. 1) структура хромосом изменяется удивительным образом (рис. 24-25). В неделящихся клетках эукариот (стадия G₀) и на стадии интерфазы при делении (G₁, S и G₂) материал хромосом, **хроматин**, аморфен и, вероятно, хаотически распределен по центру ядра. В фазе S интерфазы ДНК в таком аморфном виде реплицируется, при этом каждая хромосома образует две сестринские хромосомы (они называются

сестринскими хроматидами), которые остаются связанными друг с другом после завершения репликации. Хромосомы становятся намного более конденсированными во время профазы митоза и принимают характерную форму, которая зависит от вида организма (рис. 24-5).

Хроматин состоит из нитей, содержащих белок и ДНК примерно в равной пропорции (по массе) и небольшое количество РНК. Молекула ДНК в хроматине очень плотно связана с белками **гистонами**, которые упаковывают и упорядочивают ДНК в структурные единицы — **нуклеосомы** (рис. 24-26). В хроматине также обнаружено много негистоновых белков — одни из них помогают поддерживать структуру хромосом, а другие регулируют экспрессию специфических генов (гл. 28). Начиная с нуклеосом, ДНК эукариот образует более высокоорганизованные структуры, которые в итоге формируют компактную хромосому, видимую в световом микроскопе. Рассмотрим структуру хромосом эукариот и сопоставим ее с упаковкой ДНК в клетках бактерий.

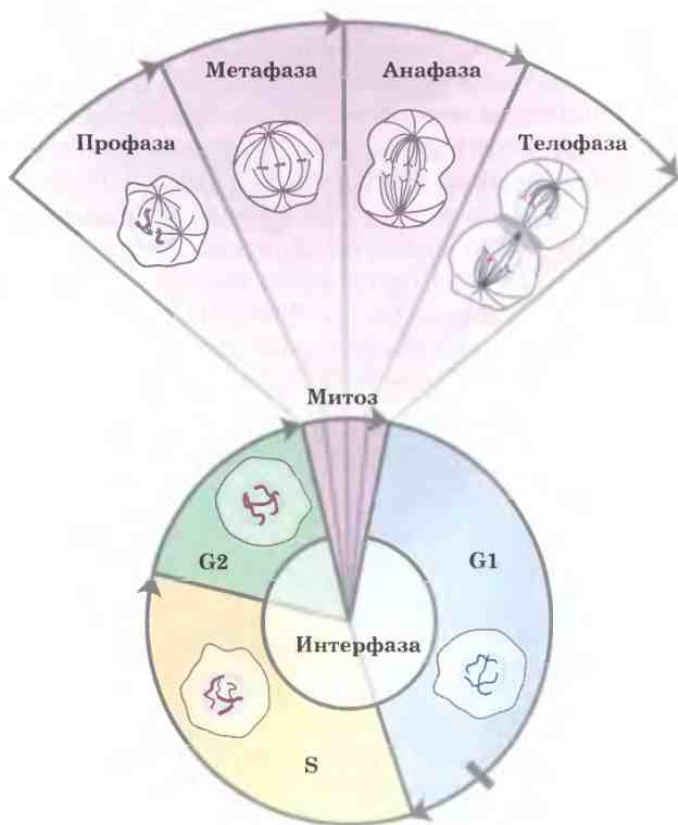


Рис. 24-25. Изменения структуры хромосомы в ходе клеточного цикла эукариот. Относительная длительность фаз изображена здесь только для удобства. Длительность каждой фазы различна в разных типах клеток и при разных условиях роста (для одноклеточных организмов) или состояния метаболизма (для многоклеточных). Самой короткой обычно бывает фаза митоза. Как схематично показано на диаграмме, в интерфазе клеточная ДНК деконденсирована. В интерфазе (см. рис. 12-43 в т. 1) можно отдельно выделить фазу G₁ (от англ. *gap* — промежуток), фазу S (синтез), когда происходит репликация ДНК, и фазу G₂, во время которой реплицированные хромосомы (хроматиды) сходятся друг с другом. В митозе можно выделить четыре фазы. Конденсация ДНК происходит в профазе. Во время метафазы конденсированные хромосомы выстраиваются парами в центре веретена деления. Каждая хромосома в каждой паре хромосом связана с веретеном деления, направленным к полюсу клетки, через микротрубочки, которые расположены между веретеном и центромерой. Сестринские хроматиды разделяются в анафазе, каждая из них движется к полюсу, с которым она соединена веретеном. После завершения деления клетки хромосомы деконденсируются, и цикл начинается заново.

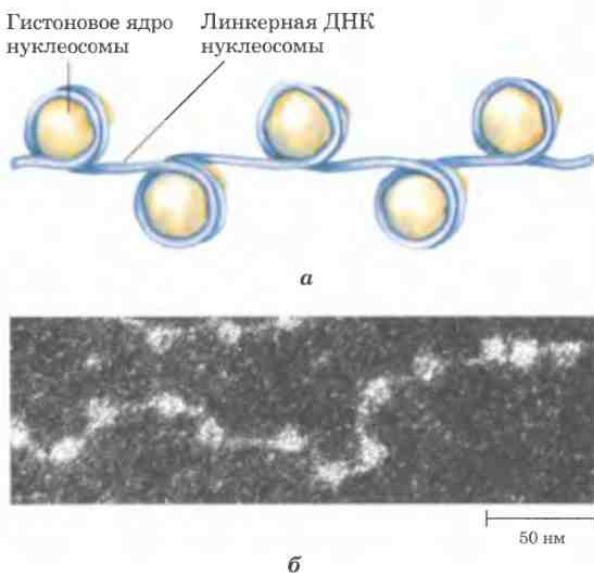


Рис. 24-26. Нуклеосомы. Разделенные равными промежутками нуклеосомы состоят из гистоновых комплексов, связанных с ДНК. *а* — схематичное изображение; *б* — электронная микрофотография.

Гистоны — небольшие основные белки

Гистоны, с молекулярной массой от 11 000 до 21 000, обнаружены во всех клетках эукариот; эти белки отличаются высоким содержанием основных аминокислот аргинина и лизина (которые вместе составляют четверть всех аминокислот). Все эукариотические клетки содержат пять основных классов гистонов, различающихся молекулярной массой и аминокислотным составом (табл. 24-4). Гистоны H3 имеют почти идентичную аминокислотную последовательность в клетках всех эукариот, как и гистоны H4, что указывает на консервативность их функций. Например,

молекулы гистонов H4 гороха и коровы различаются только двумя аминокислотными остатками из 102; молекулы гистонов H4 человека и дрожжей различаются восемью остатками. Последовательности гистонов H1, H2A и H2B у разных видов эукариот менее схожие.

Гистоны каждого класса подвергаются ферментативной модификации — метилированию, ADP-рибозилированию, фосфорилированию, гликозилированию или ацетилированию. Такие модификации влияют на суммарный электрический заряд, форму и другие свойства гистонов, на структурные и функциональные свойства хроматина, а также важны для регуляции транскрипции (гл. 28).

Кроме того, некоторые гистоны эукариот существуют в виде нескольких вариантов, особенно это касается гистонов H2A и H3, которые более подробно описаны ниже. Эти гистоны и их модификации играют в метаболизме ДНК особую роль.

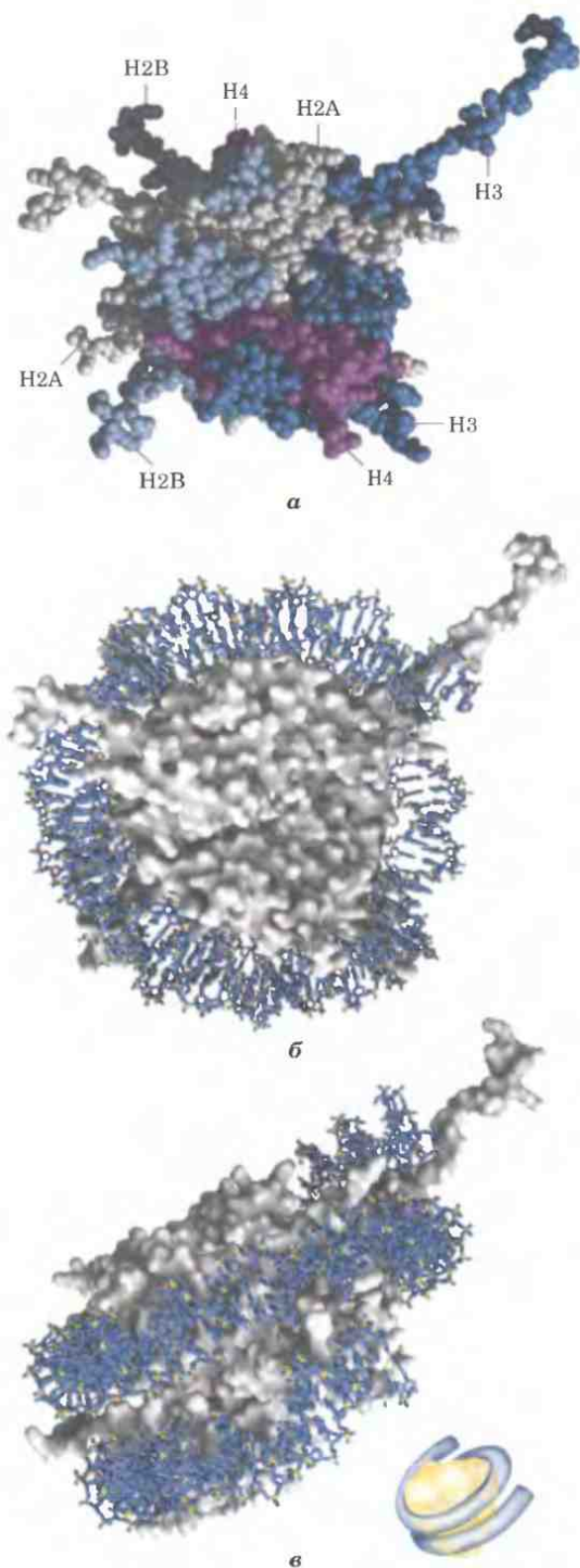
Нуклеосомы — основные структурные единицы хроматина

Эукариотические хромосомы, изображенные на рис. 24-5, представляют собой компактную укладку молекулы ДНК длиной примерно 10^5 мкм в ядре клетки, диаметр которого обычно составляет от 5 до 10 мкм. Такая компактность достигается благодаря многоуровневой организации укладки. При частичном нарушении укладки хромосомы обнаруживается структура, в которой ДНК прочно связана с глобулами (шариками) белка, часто разделенными регулярными промежутками (рис. 24-27). Шарiki в этих «бусах» — это гистоны в комплексе с ДНК. Шарик и нить ДНК, соединяющая его со следующим шариком, образуют нуклеосому — основную структурную единицу,

Таблица 24-4 Классы гистонов и их свойства

Гистон	Молекулярная масса	Число аминокислотных остатков	Доля основных аминокислот (% от общего числа)	
			Lys	Arg
H1*	21 130	223	29,5	11,3
H2A*	13 960	129	10,9	19,3
H2B*	13 774	125	16,0	16,4
H3	15 273	135	19,6	13,3
H4	11 236	102	10,8	13,7

* Размеры этих гистонов слегка различаются у разных видов. Приведенные данные относятся к гистонам быка.



на которой происходит дальнейшая укладка хроматина. Глобула каждой нуклеосомы содержит восемь гистонов: по две копии H2A, H2B, H3 и H4. Фрагменты ДНК между шариками представляют собой повторяющиеся единицы, обычно длиной 200 п. н., из которых 146 п. н. плотно обмотаны вокруг гистоновой ядра из восьми частей, а оставшаяся часть ДНК соединяет глобулы между собой. Гистон H1 взаимодействует с соединяющей (линкерной) ДНК. Неглубокая обработка хроматина расщепляющими ДНК ферментами вызывает в первую очередь деградацию линкерной ДНК; в результате происходит высвобождение гистоновых частиц, содержащих 146 п. н. связанной ДНК, которая была защищена от расщепления. Исследователи кристаллизовали полученные таким образом нуклеосомные частицы и с помощью рентгеноструктурного анализа установили, что ДНК обмотана вокруг восьми молекул гистонов в виде левозакрученной соленоидной сверхспирали (рис. 24-27).

Детальное изучение данной структуры объяснило, почему ДНК эукариот частично раскручивается даже в отсутствие ферментов в эукариотических клетках, осуществляющих частичное раскручивание ДНК. Вспомним, что соленоидное скручивание ДНК в нуклеосомах — одна из двух форм сверхспирали, которую может принимать частично раскрученная (отрицательно сверхспирализованная) ДНК. Плотное обматывание ДНК вокруг гистоновой ядра требует удаления из ДНК примерно одного витка. Когда белковая сердцевина нуклеосомы связывается *in vitro* с релаксированной замкнутой кольцевой ДНК, происходит отрицательная сверхспирализация. Поскольку такой процесс связывания не разрывает ДНК и не изменяет порядок зацепления, формирование

Рис. 24-27. ДНК обвивается вокруг ядра нуклеосомы. а — шаровая модель белков нуклеосомной частицы из африканской лягушки *Xenopus laevis*; разными цветами показаны разные гистоны (PDB ID 1A0I). б и в — вид сверху и вид сбоку на кристаллическую структуру нуклеосомы (контур поверхности показан серым цветом) с обвитой связанной ДНК (синяя) длиной 146 п. н. Молекула ДНК связывается в виде левозакрученной соленоидной сверхспирали, опоясывающей гистоновый комплекс 1,8 раз. Для наглядности представлено схематичное изображение нуклеосомы (г — внизу справа).

отрицательной соленоидной сверхспирали должно компенсироваться образованием положительной сверхспирали на участке несвязанной ДНК (рис. 24-28). Как упоминалось ранее, эукариотические топоизомеразы могут вызывать релаксацию положительной сверхспирали. Релаксация несвязанной положительно сверхспирализованной ДНК приводит к фиксированию отрицательной сверхспирализованной ДНК (при ее связыва-

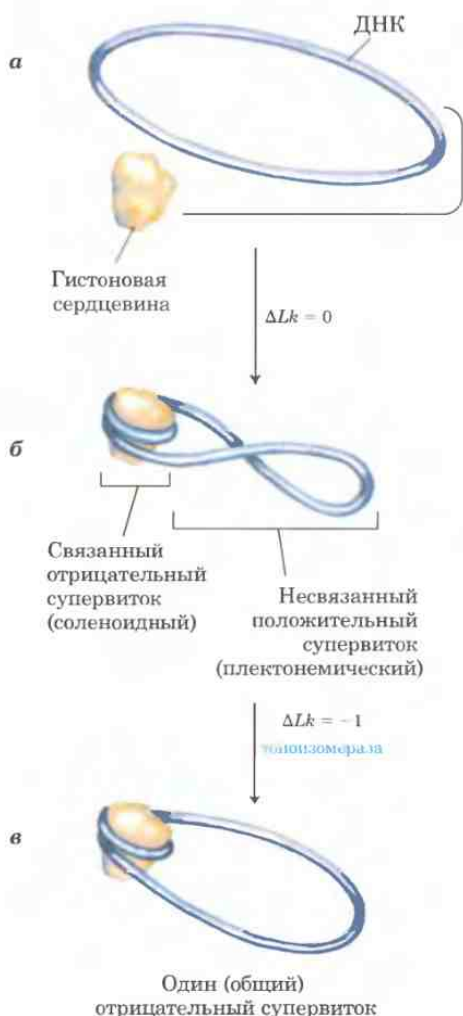


Рис. 24-28. Сборка хроматина. а — релаксированная замкнутая кольцевая ДНК. б — при связывании гистоновой сердцевины и формировании нуклеосомы возникает один отрицательный сверхвиток. Если ни в одной из цепей нет разрывов, где-нибудь в ДНК возникает положительный сверхвиток ($\Delta Lk = 0$). в — релаксация такого положительного сверхвитка топоизомеразой оставляет один отрицательный сверхвиток ($\Delta Lk = -1$).

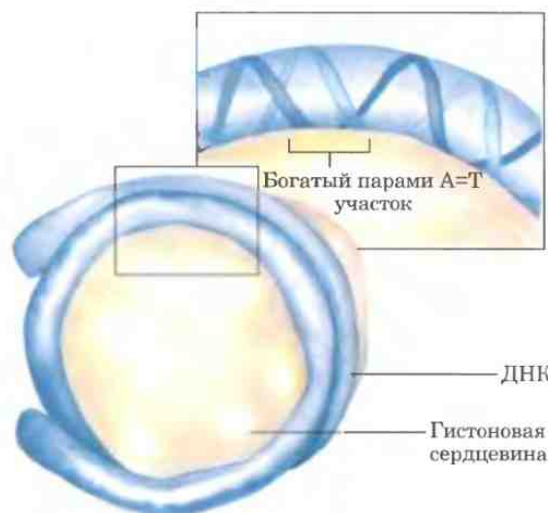


Рис. 24-29. Расположение нуклеосомы, при котором оптимально используются пары нуклеотидов А=Т в участках соприкосновения гистоновой сердцевины с малой бороздкой спирали ДНК.

нии с гистоновой сердцевиной) и выражается в общем уменьшении порядка зацепления. Было показано, что топоизомеразы необходимы для сборки хроматина из очищенных гистонов и замкнутой кольцевой ДНК *in vitro*.

Еще одним фактором, влияющим на связывание ДНК с гистонами в нуклеосомах, является последовательность ДНК. Гистоновая сердцевина связывается не с любым, а с определенным участком ДНК. Принцип выбора такого участка до конца не ясен, но в некоторых случаях, вероятно, он определяется количеством пар А=Т в том участке спирали ДНК, где она соприкасается с гистонами (рис. 24-29). Сужение малой бороздки спирали в этих точках способствует плотной упаковке ДНК вокруг гистонического ядра; сочетание двух или трех пар нуклеотидов А=Т увеличивает вероятность такого сужения. Особенно охотно нуклеосомы связываются с такими последовательностями, в которых динуклеотиды АА, АТ или ТТ встречаются с интервалом 10 п. н., и именно таким свойством обладают до 50% последовательностей, связывающихся с гистонами *in vivo*.

Для правильного расположения некоторых нуклеосомных частиц на ДНК необходимы другие белки. У некоторых организмов определенные белки связываются со специфической последовательностью ДНК, способствуя формированию поблизости нуклеосомной частицы.

В ходе репликации или в других процессах, требующих временного перемещения нуклеосом, нуклеосомы остаются связанными с ДНК. Это связывание осуществляется ступенчатым образом. Сначала происходит связывание тетрамера, образованного двумя гистонами Н3 и двумя гистонами Н4, вслед за которыми связываются димеры Н2А–Н2В. Связывание нуклеосом с хромосомами после репликации хромосом происходит при участии белкового комплекса RCAF (от англ. *replication-coupling assembly factor*). Комплекс RCAF состоит из ацетилированных гистонов Н3 и Н4, трехсубъединичного белка, называемого фактором сборки хроматина-1 (англ. *chromatin assembly factor 1*, CAF1), и белка ASF1 (от англ. *anti-silencing factor 1*). Механизм связывания нуклеосом изучен не полностью, хотя известно, что элементы комплекса RCAF непосредственно взаимодействуют с элементами репликационного аппарата. Когда после репарации ДНК или другого процесса возникает необходимость сборки нуклеосом, RCAF заменяется другим специализированным белковым комплексом, опосредующим связывание. В некоторых случаях факторы обмена гистонов позволяют осуществлять замену основных гистонов на другие варианты. Правильное расположение этих вариантов гистонов очень важно. Например, при отсутствии одного из вариантов гистонов эмбрионы мыши погибают на ранних стадиях развития (гл. 24-2). Точное расположение нуклеосомных частиц также может иметь значение для экспрессии некоторых эукариотических генов (гл. 28).

Нуклеосомы образуют структуры с более сложной организацией

Закручивание вокруг нуклеосомной частицы уменьшает длину ДНК примерно в семь раз. Но в целом в хромосоме длина ДНК сокращается более чем в 10 000 раз, следовательно, существуют и другие уровни организации ДНК. Очень мягкие методы выделения хромосом позволяют обнаружить, что ядра нуклеосом организованы в структуры, называемые **30-нм фибриллами** (рис. 24-30). Для такой упаковки требуется одна молекула гистона Н1 на нуклеосому. Однако участки такой укладки прерываются участками ДНК, связанными со специфическими (негистоновыми) белками. Кроме того, наличие 30-нм фибрилл зависит от интенсивности транскрипции участка ДНК. Участки активной транскрипции генов находятся в менее организованном состоянии и содержат очень мало гистона Н1 (или вовсе его не содержат).

30-нм фибриллы представляют собой второй уровень организации хроматина, обеспечивающий 100-кратное сокращение длины ДНК. Более высокие уровни организации ДНК пока не исследованы; вероятно, определенные участки ДНК связаны с хромосомным остовом (рис. 24-31). Ассоциированные с остовом участки разделены петлями ДНК размером от 20 до 100 т. п. н. ДНК в этой петле может содержать набор родственных генов. Например, у дрозофил полный набор генов, кодирующих гистоны, сосредоточен в виде кластеров в петлях, которые присоединены к хро-

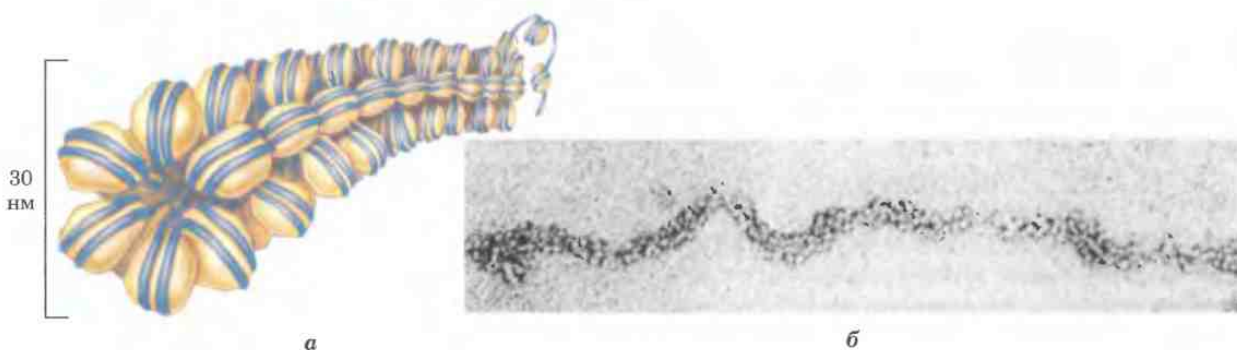


Рис. 24-30. 30-нм фибриллы — более высокий уровень организации нуклеосом. *а* — схема предполагаемого строения фибриллы. *б* — электронная микрофотография.



Информация, которая передается от одного поколения к другому (дочерним клеткам при делении клеток или детям от родителей), но не кодируется в ДНК, называется **эпигенетической**. Большая часть этой информации содержится в виде ковалентных модификаций гистонов и/или в виде размещения вариантов гистонов в хромосомах.

Участки хроматина, в которых происходит активная экспрессия генов (транскрипция), обычно находятся в неконденсированной форме и называются **эухроматином**. В этих участках гистоны H3 и H2A часто заменены на варианты гистонов H3.3 и H2AZ соответственно (рис. 1). Комплексы, осуществляющие связывание ДНК с нуклеосомами, содержащими варианты гистонов, сходны с теми, что отвечают за связывание с нуклеосомами, содержащими основные гистоны. Связывание нуклеосом, содержащих гистон H3.3, осуществляется комплексом, в котором фактор сборки хроматина-1 (CAF1) заменен белком HIRA (название происходит от класса белков HIR, от англ. *histone repressor*). Белки CAF1 и HIRA можно рассматривать в качестве

гистоновых шаперонов, помогающих обеспечить правильную сборку и размещение нуклеосом. Гистон H3.3 отличается от H3 лишь четырьмя аминокислотными остатками, однако эти остатки играют ключевую роль в связывании гистона.

Подобно гистону H3.3, гистон H2AZ связан с определенным связывающим комплексом и обычно ассоциирован с активно транскрибируемыми участками хроматина. Включение H2AZ стабилизирует нуклеосомный октамер, но препятствует некоторым кооперативным взаимодействиям между нуклеосомами, необходимым для формирования компактной структуры хромосомы. Это приводит к образованию хромосомы с более открытой структурой, что облегчает экспрессию генов в области H2AZ. Ген, кодирующий H2AZ, играет важную роль в развитии млекопитающих. У дрозофил отсутствие H2AZ препятствует развитию организма после стадии личинки.

Другой вариант гистона H2A — H2AX — связан с репарацией ДНК и генетической рекомбинацией. У мышей отсутствие H2AX приводит к геномной нестабильности и бесплодию у самцов. Небольшие количества H2AX, по-видимому, распределены по всему геному. При двухцепочечном разрыве ДНК находящиеся поблизости молекулы H2AX фосфорилируются по остатку Ser¹³⁹ на С-конце белка. Если блокировать фосфорилирование экспериментальным путем, ингибируется образование белковых комплексов, необходимых для репарации ДНК.

Вариант гистона H3, известный как CENPA, связан с повторяющимися последовательностями ДНК в центромерах. Хроматин в области центромеры содержит гистоновые шапероны CAF1 и HIRA; по-видимому, оба белка участвуют в связывании нуклеосом, содержащих CENPA. Удаление гена CENPA у мышей приводит к летальному исходу.

Для изучения функций и расположения вариантов гистонов можно применять методы геномики. Одним из полезных методов является иммунопреципитация хроматина (ChIP, от англ. *chromatin immunoprecipitation*). Суть метода состоит в осаждении нуклеосом, содержащих определенный вариант гистона, при связывании этого варианта со специфическими антителами. В принципе нуклеосомы можно изучать отдельно от ДНК, но чаще при исследовании связанную ДНК сохраняют, что позволяет определить участок связывания нуклеосомы. Молекулу ДНК можно пометить и использовать

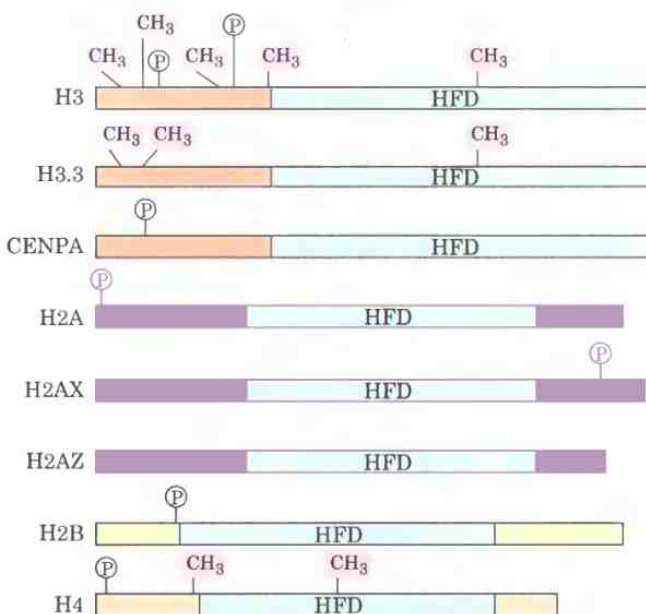


Рис. 1. Известно несколько вариантов гистонов H3, H2A и H2B. Здесь показаны основные гистоны и несколько известных вариантов. Выделены участки метилирования остатков Lys/Arg и фосфорилирования остатков Ser. Участок HFD (от англ. *histone fold domain*) — структурный домен, присутствующий во всех основных гистонах.

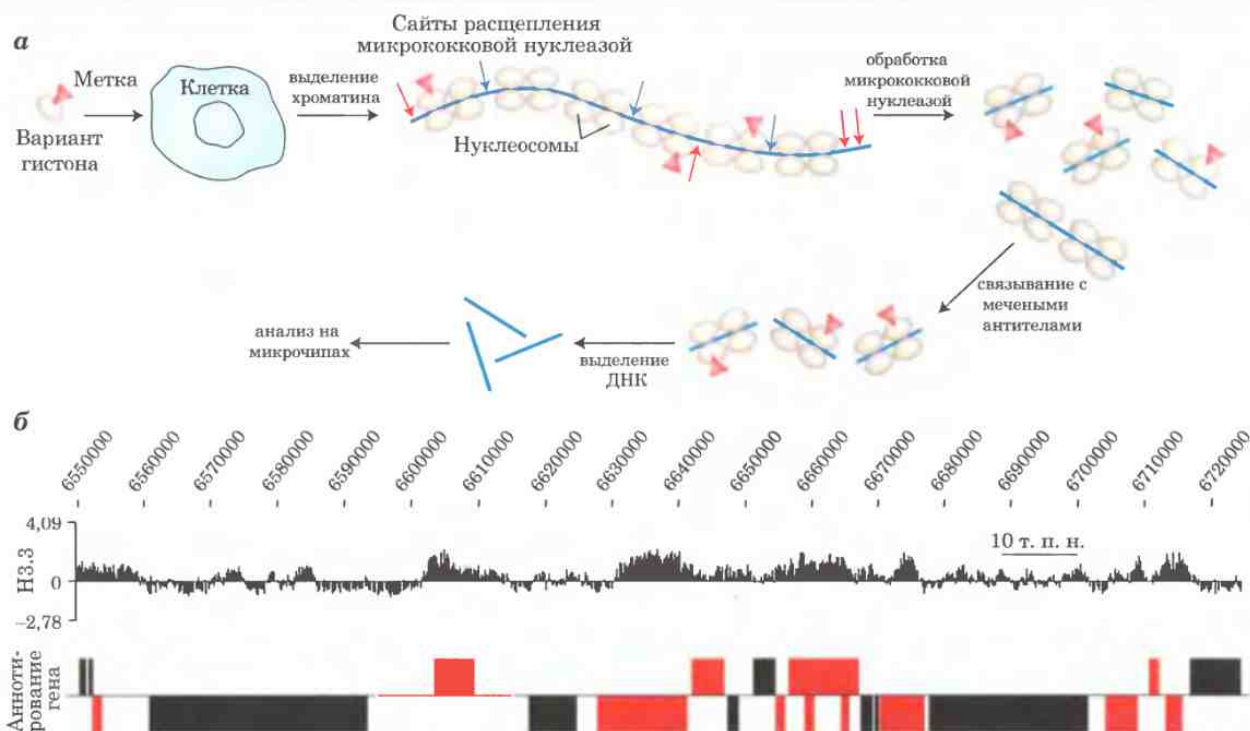


Рис. 2. Метод иммунопреципитации хроматина на микрочипе позволяет определить последовательности генома, с которыми связывается тот или иной вариант гистона. *а* — вариант гистона с меткой-эпитопом (белком или химической структурой, распознаваемой антителом; см. гл. 5 и 9 в т. 1) вводят в определенный тип клеток, где он встраивается в нуклеосомы. (В некоторых случаях в таких метках нет нужды, поскольку существуют антитела, связывающиеся непосредственно с модифицированным участком изучаемого гистона.) Затем из клеток выделяют хроматин и расщепляют его микрококковой нуклеазой. Связанная с нуклеосомами ДНК защищена от расщепления, однако линкерная ДНК расщепляется, что приводит к высвобождению сегментов ДНК, связанных с одной или двумя нуклеосомами. При добавлении антител происходит селективное осаждение нуклеосом, содержащих меченый вариант гистона. Из осадка экстрагируют связанную с этими нуклеосомами ДНК, помечают ее и используют в качестве зонда для анализа на микрочипах, содержащих геномные последовательности данного типа клеток. *б* — гибридизация на микрочипе позволяет обнаружить последовательности ДНК, связанные с нуклеосомами с определенным вариантом гистона. В данном примере (верхняя панель) представлена гибридизация ДНК, связанной с гистонами H3.3 в небольшом участке генома дрозофилы. Аннотированные гены данного участка генома представлены на нижней панели (широкие полосы). С гистонами H3.3 связываются участки ДНК, расположенные вблизи активно транскрибирующихся генов (красные полосы).

в качестве зонда в методе анализа на микрочипах (см. рис. 9-22 в т. 1) для получения карты геномной последовательности, с которой связывается каждая конкретная нуклеосома. Этот метод часто называют иммунопреципитацией на чипе (ChIP on chip; рис. 2).

Варианты гистонов, а также многие ковалентные модификации гистонов, позволяют определить функ-

ции хроматина. Они размечают хроматин, облегчая или подавляя специфические функции, такие как расхождение хромосом, транскрипция и репарация ДНК. Модификации гистонов не исчезают при делении клеток или при мейозе, и таким образом они становятся частью информации, передаваемой от поколения к поколению во всех эукариотических организмах.

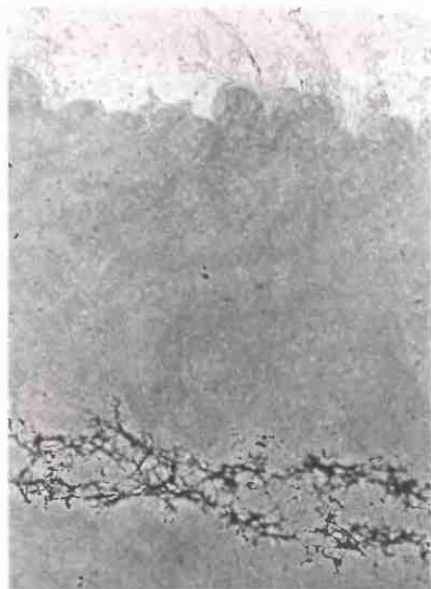


Рис. 24-31. Частично расплетенная хромосома человека; видны многочисленные петли ДНК, прикрепленные к хромосомному остову.

хромосомному остову (рис. 24-32). Сам остов также содержит несколько белков, особенно в большом количестве гистон Н1 (расположенный на внутренней стороне волокна) и топоизомеразу II. Присутствие топоизомеразы II еще раз указывает на связь между частичным раскручиванием ДНК и структурой хроматина. Топоизомераза II на-

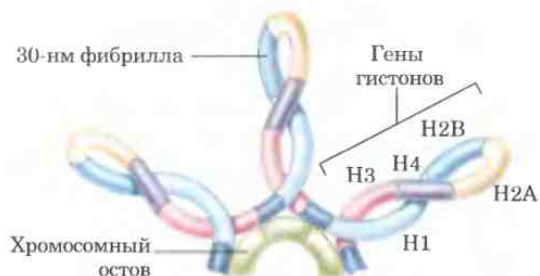


Рис. 24-32. Петли хромосомной ДНК, прикрепленные к хромосомному остову. Молекулы ДНК в петлях упакованы в виде 30-нм фибрилл, поэтому петли — следующий уровень организации хромосом. Петли часто содержат группы генов с родственными функциями. Полные наборы генов гистонов, как показано на данной схеме, образуют кластеры в петлях такого рода. В отличие от большинства других генов гистонов во многих геномах эукариот присутствуют в большом количестве копий.

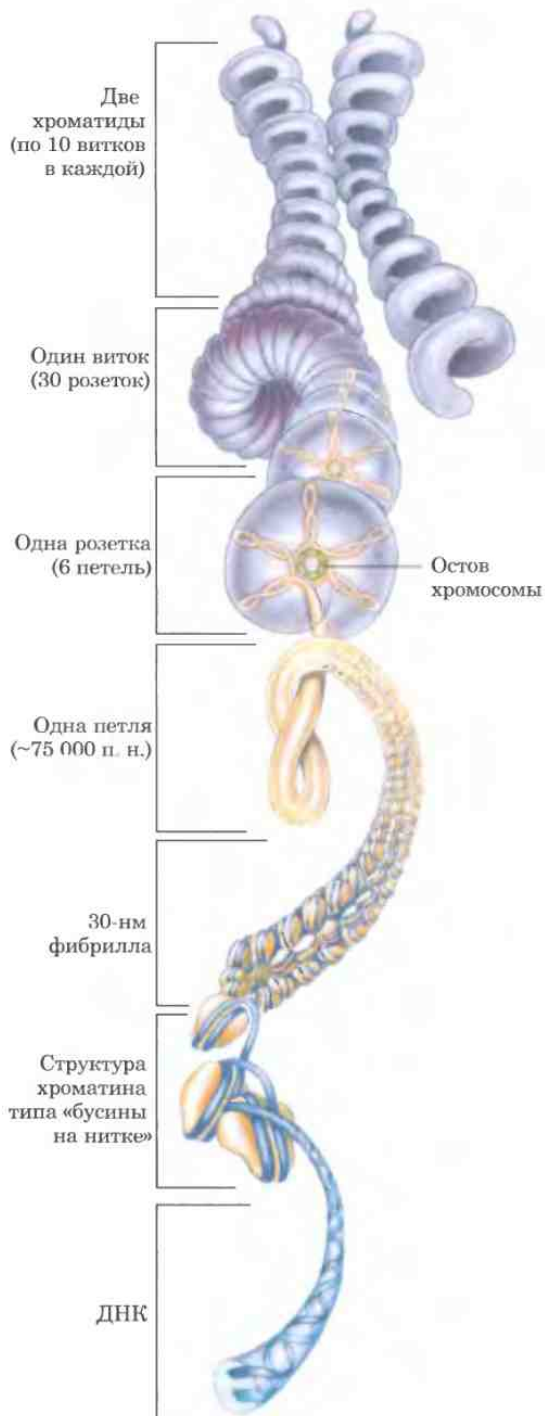


Рис. 24-33. Компактная упаковка ДНК в хромосоме эукариот. Модель демонстрирует уровни организации ДНК эукариот, которые могут объяснить компактную упаковку хромосом. В клетке уровни более высокой организации (выше уровня 30-нм фибрилл), скорее всего, не столь единообразны, как показано на данной схеме.

столько важна для поддержания структуры хроматина, что ингибиторы этого фермента могут быстро уничтожить делящиеся клетки. Несколько химиотерапевтических препаратов являются ингибиторами топоизомеразы II — фермент может инициировать разрыв нитей, но не позволяют ему зашить разрыв.

Получены доказательства еще более сложной организации хромосом эукариот, причем каждый уровень организации значительно повышает компактность упаковки. Одна из моделей, объясняющих компактность структуры ДНК, показана на рис. 24-33. Более высокоорганизованные структуры хроматина, вероятно, различаются в разных хромосомах, в разных участках одной хромосомы и в разные моменты жизненного цикла клетки. Ни одна модель не может адекватно описать все эти структуры. Тем не менее принцип ясен: компактность ДНК эукариотических хромосом обеспечивается укладкой витка на виток, витка на виток...

Трехмерная упаковка хромосомного остова

Структура конденсированных хромосом поддерживается SMC-белками

Наряду с гистонами и топоизомеразами существует третий важный класс белков хроматина — это так называемые **SMC-белки** (от англ. *structural maintenance of chromosomes* — белки, поддерживающие структуру хромосом). Первичная структура SMC-белков состоит из пяти различных доменов (рис. 24-34, а). Концевые глобулярные домены N и С (на N- и С-конце), каждый из которых содержит часть активного центра, в котором происходит гидролиз АТР, соединены с двумя α -спиральными участками (см. рис. 4-10 в т. 1), между которыми располагается шарнирный домен. Белки этого класса обычно образуют димерный V-образный комплекс, соединяясь друг с другом через шарнирный домен (рис. 24-34, б, в). Один N- и один С-домен сближаются, образуя функциональный центр гидролиза АТР на каждом свободном конце V-образного комплекса.

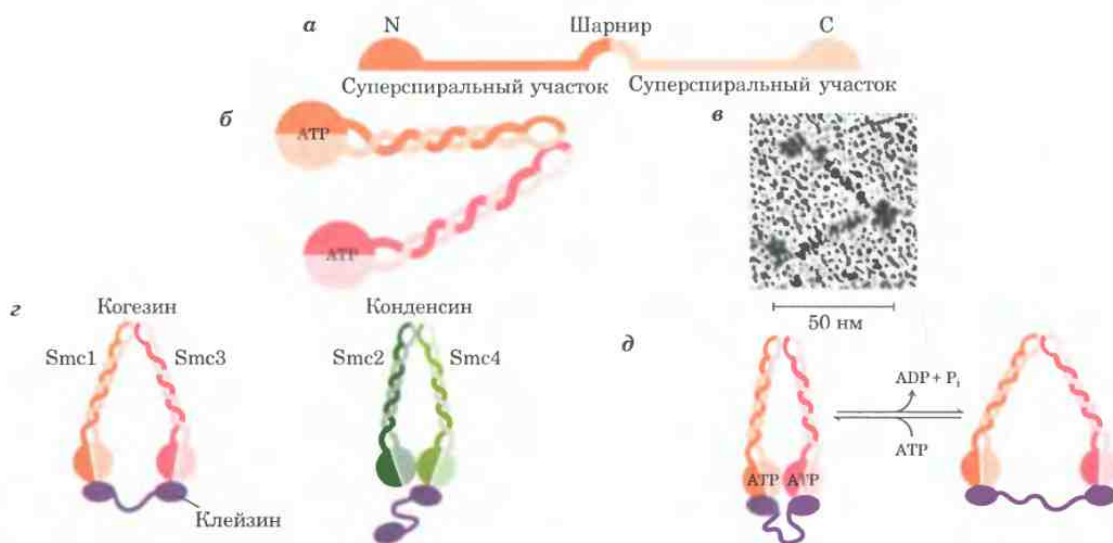


Рис. 24-34. Структура SMC-белков. а — пять доменов первичной структуры SMC. Буквами N и С обозначены N- и С-концевые последовательности соответственно. б — каждый полипептид сложен таким образом, что два спиральных домена закручены относительно друг друга, так что N- и С-домены соединяются, образуя полноценный АТР-связывающий сайт. Два таких домена связываются шарнирной областью с образованием V-образного димера. в — электронная микрофотография SMC-белков из *Bacillus subtilis*. г — когезины состоят из пар белков SMC1 и SMC3, а конденсины — из пар SMC2–SMC4. Эти эукариотические SMC-белки связываются с клейзином и некоторыми другими регуляторными белками (не показаны). д — гидролиз АТР может служить для открытия и закрытия АТР-домена SMC-димера, который остается связанным с клейзином и другими белками (не показано).

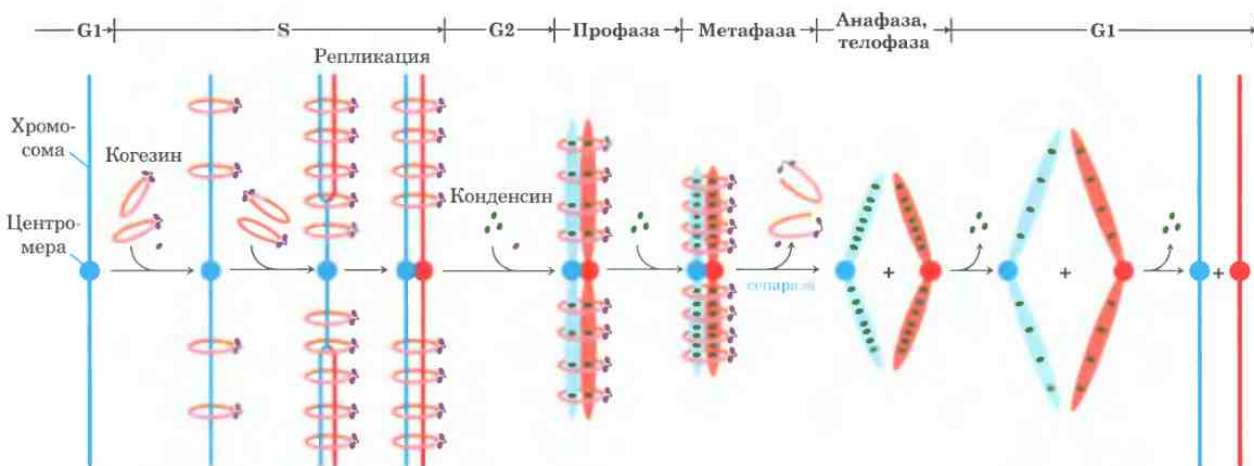


Рис. 24-35. Моделирование роли когезинов и конденсинов в клеточном цикле эукариот. Когезины присоединяются к хромосомам в фазе G1 и удерживают вместе сестринские хроматиды в процессе репликации. При митозе с хроматидами связываются конденсины и удерживают их в конденсированном состоянии. В ходе анафазы связи с когезинами удаляются под действием так называемой сепаразной активности. После разделения хроматид конденсины начинают отделяться, и дочерние хромосомы возвращаются в неконденсированное состояние.

Белки семейства SMC обнаружены во всех организмах — от бактерии до человека. Эукариоты имеют два основных типа SMC-белков — когезины и конденсины, причем оба типа этих белков связываются с регуляторными и вспомогательными белками (рис. 24-34, *з*). **Когезины** играют существенную роль в связывании между собой сестринских хроматид сразу после репликации и удерживании их в таком состоянии в процессе конденсации хромосом при переходе к стадии метафазы. Связывание важно для правильного расхождения хромосом при клеточном делении. Когезины вместе с белком третьего типа клейзином, по-видимому, образуют вокруг реплицирующихся хромосом кольцо, которое удерживает хромосомы вместе до того момента, когда в ходе клеточного деления начнется расхождение хромосом. Это кольцо может растягиваться и сжиматься в ответ на гидролиз АТФ (рис. 24-34, *д*). **Конденсины** важны для конденсации хромосом при переходе клетки к митозу. В лабораторных условиях конденсины связываются с ДНК таким образом, что образуются положительные сверхвитки — связывание конденсина вызывает переход ДНК в сверхспирализованное состояние, в отличие от состояния частичного раскручивания, вызываемого связыванием нуклеосом. Пока еще не ясно, как это помогает компактной укладке хроматина, однако закручивание ДНК вокруг конденсина

может играть определенную роль в конденсации ДНК. Когезины и конденсины опосредуют многие изменения в структуре хромосом в клеточном цикле эукариот (рис. 24-35).

Бактериальная ДНК тоже сложно организована

Теперь вкратце обсудим строение бактериальных хромосом. Бактериальная ДНК упакована в структуру, называемую **нуклеоидом**; нуклеоид может занимать значительную часть объема клетки (рис. 24-36). Установлено, что ДНК в



Рис. 24-36. Нуклеоид *E. coli*. Молекулы ДНК этих клеток обработаны красителем, который флуоресцирует при УФ-облучении. Светящиеся области представляют собой нуклеоиды. Обратите внимание, что ДНК в некоторых клетках реплицировалась, но клетки еще не разделились и поэтому содержат несколько нуклеоидов.

одной или нескольких точках прикрепляется к внутренней поверхности плазматической мембраны. О структуре нуклеоида известно гораздо меньше, чем о структуре хроматина эукариот, но постепенно проявляются детали его сложного строения. В клетках *E. coli* существует своеобразный каркас, позволяющий организовать кольцевую хромосому в виде примерно 500 петлевых доменов, каждый в среднем по 10 000 п. н. (рис. 24-37), как описано выше для хроматина. Эти домены топологически ограничены; например, если происходит разрыв ДНК в одном домене, только в этом домене она и окажется релаксирована. Домены не имеют фиксированных концов. Напротив, в ходе репликации их границы постоянно смещаются по последовательности ДНК. Бактериальная ДНК, по-видимому, не имеет структуры, сопоставимой с нуклеосомами эукариот. В клетках *E. coli* содержится много гистоноподобных белков (наиболее хорошо изучен состоящий из двух субъединиц белок HU M_r 19 000), но эти белки связываются и диссоциируют в течение нескольких минут, а регулярных стабильных ДНК-гистоновых комплексов обнаружено не было. Динамические изменения в структуре бактериальной хромосомы могут быть связаны с потребностью в более быстром

доступе к генетической информации. Клеточный цикл бактериальной клетки может занимать всего 15 мин, в то время как типичная эукариотическая клетка не делится несколько часов или даже месяцев. Кроме того, у прокариот в кодировании РНК и/или белков задействована гораздо большая часть ДНК. Более интенсивные темпы клеточного метаболизма у бактерий означают, что за один и тот же отрезок времени в клетках бактерий транскрибируется или реплицируется значительно большая часть ДНК, чем у большинства эукариотических клеток.

Мы рассмотрели сложное строение ДНК и теперь готовы перейти к следующей главе, в которой обсуждается метаболизм ДНК.

Краткое содержание раздела 24.3 СТРУКТУРА ХРОМОСОМ

- Основная единица организации хроматина в клетках эукариот — нуклеосома, которая состоит из гистонов и сегмента ДНК длиной 200 п. н. Белковое ядро нуклеосомы, содержащее восемь гистонов (по две копии каждого из гистонов H2A, H2B, H3 и H4), обернуто сегментом ДНК (примерно 146 п. н.) в форме левозакрученной соленоидной сверхспирали.
- Нуклеосомы образуют 30-нм фибриллы, которые упакованы таким образом, что достигается 10 000-кратная компактизация ДНК, необходимая для размещения обычной эукариотической хромосомы в клеточном ядре. Следующие уровни организации основаны на присоединении к хромосомному остову, состоящему из гистона H1, топоизомеразы II и SMC-белков. Белки SMC, главным образом когезины и конденсины, играют важную роль в поддержании структуры хромосом на каждой стадии клеточного цикла.
- Бактериальные хромосомы в нуклеоиде тоже находятся в компактной упаковке, но хромосома прокариот имеет гораздо более динамичную и нерегулярную структуру, чем хроматин эукариот, что связано с краткостью клеточного цикла и высокой интенсивностью метаболизма бактерий.

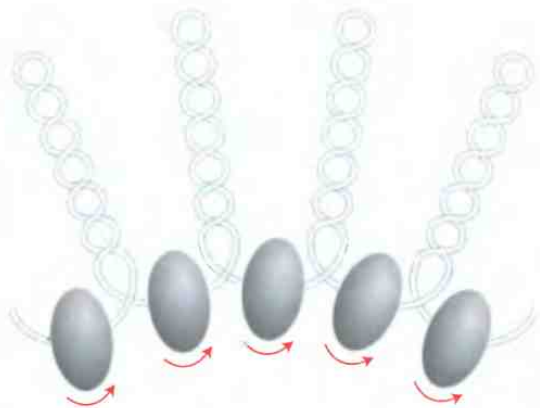


Рис. 24-37. Петли в хромосоме *E. coli*. Длина каждого такого домена около 10 000 п. н. Домены не статичны, а перемещаются по последовательности ДНК по мере продвижения репликации. Релаксации ДНК за границами того домена, в котором произошел разрыв нити, препятствуют находящиеся на границах домена элементы неизвестного состава. Эти граничные комплексы показаны в виде серых овалов. Стрелки указывают перемещение ДНК через граничные комплексы.

Ключевые термины

Термины, выделенные жирным шрифтом, объясняются в глоссарии.

30-нм фибрилла 31	Регуляторная последовательность 8
СМС-белки 35	Релаксированная ДНК 16
Ген 8	Сателлитная ДНК 13
Гистоны 27	Сверхспираль 16
Инtron 12	Соленоидный 25
Когезины 36	Теломера 14
Конденсины 36	Топоизомеры 20
Кручение 20	Топология 16
Мутация 8	Фенотип 8
Нуклеоид 36	Хроматин 27
Нуклеосома 27	Хромосома 27
Плазмида 10	Центромера 14
Плектонемический 24	Частичное раскручивание
Плотность сверхспирализации σ 19	17
Порядок зацепления 18	Экзон 12
Простая последовательность ДНК 13	Топоизомеразы 23
Райзинг 20	Эпигенетический 32
	Эухроматин 32

Дополнительная литература для дальнейшего изучения

Общая литература

Blattner, F. R., Plunkett, G. III, Bloch, C. A., Perna, N. T., Burland, V., Riley, M., Collado-Vides, J., Glasner, J. D., Rode, C. K., Mayhew, G. F., et al. (1997) The complete genome sequence of *Escherichia coli* K-12. *Science* **277**, 1453–1474.

Новые секреты этого обычного лабораторного организма.

Cozzarelli, N. R. & Wang, J. C. (eds). (1990) *DNA Topology and Its Biological Effects*, Cold Spring Harbor Laboratory Press, Cold Spring Harbor, NY.

Kornberg, A. & Baker, T. A. (1991) *DNA Replication*, 2nd edn, W. H. Freeman & Company, New York.

Хорошая книга для углубления знаний о структуре и функциях ДНК.

Lodish, H., Berk, A., Kaiser, C. A., Krieger, M., Scott, M. P., Bretscher, A., Plough, H., & Matsudaira, P. (2008) *Molecular Cell Biology*, 6th edn, W. H. Freeman & Company, New York.

Отличный источник информации по данной теме.

Гены и хромосомы

Bromham, L. (2002) The human zoo: endogenous retroviruses in the human genome. *Trends Ecol. Evol.* **17**, 91–97.

Подробное описание одного из классов транспозонов, который составляет заметную часть генома человека.

Goffeau, A., Barrell, B. G., Bussey, H., Davis, R. W., Dion, B., Feldmann, H., Galibert, F., Hoheisel, J. D., Jacq, C., Johnston, M., et al. (1996) Life with 6000 genes. *Science* **274**, 546, 563–567.

Отчет о первом полностью расшифрованном эукариотическом геноме — геноме дрожжей *Saccharomyces cerevisiae*.

Long, M., de Souza, S. J., & Gilbert, W. (1995) Evolution of the intron-exon structure of eukaryotic genes. *Curr. Opin. Genet. Dev.* **5**, 774–778.

McEachern, M. J., Krauskopf, A., & Blackburn, E. H. (2000) Telomeres and their control. *Annu. Rev. Genet.* **34**, 331–358.

Schmid, C. W. (1996) Alu: structure, origin, evolution, significance and function of one-tenth of human DNA. *Prog. Nucleic Acid Res. Mol. Biol.* **53**, 283–319.

Tyler-Smith, C. & Floridia, G. (2000) Many paths to the top of the mountain: diverse evolutionary solutions to centromere structure. *Cell* **102**, 5–8.

Современные данные о разнообразии центромерных структур у разных организмов.

Vega, L. R., Mateyak, M. K., & Zakian, V. A. (2003) Getting to the end: telomerase access in yeast and humans. *Nat. Rev. Mol. Cell Biol.* **4**, 948–959.

Сверхспирализация и топоизомеразы

Berger, J. M. (1998) Type II DNA topoisomerases. *Curr. Opin. Struct. Biol.* **8**, 26–32.

Boles, T. C., White, J. H., & Cozzarelli, N. R. (1990) Structure of plectonemically supercoiled DNA. *J. Mol. Biol.* **213**, 931–951.

Об основных свойствах сверхспирализованной ДНК.

Champoux, J. J. (2001) DNA topoisomerases: structure, function, and mechanism. *Annu. Rev. Biochem.* **70**, 369–413.

Прекрасный обзор классов топоизомераз.

Garcia H. G., Grayson, P., Han, L., Inamdar, M., Kondev, J., Nelson, P. C., Phillips, R., Widom, W., & Wiggins, P. A. (2007) Biological consequences of tightly bent DNA: the other life of a macromolecular celebrity. *Biopolymers* **85**, 115–130.

Понятное описание физических основ укладки ДНК.

Lebowitz, J. (1990) Through the looking glass: the discovery of supercoiled DNA. *Trends Biochem. Sci.* **15**, 202–207.

Краткая и интересная историческая заметка.

Pommier, Y. (2006) Topoisomerase I inhibitors: camptothecins and beyond. *Nat. Rev. Cancer* **6**, 789–802.

Wang, J. C. (2002) Cellular roles of DNA topoisomerases: a molecular perspective. *Nat. Rev. Mol. Cell Biol.* **3**, 430–440.

Хроматин и нуклеосомы

Kornberg, R. D. (1974) Chromatin structure: a repeating unit of histones and DNA. *Science* **184**, 868–871.

Классическая статья, в которой представлена субъединичная модель хроматина.

Losada, A. & Hirano, T. (2005) Dynamic molecular linkers of the genome: the first decade of SMC proteins. *Genes Dev.* **19**, 1269–1287.

Nasmyth, K. & Haering, C. H. (2005) The structure and function of SMC and kleisin complexes. *Annu. Rev. Biochem.* **74**, 595–648.

Rando, O. J. (2007) Chromatin structure in the genomics era. *Trends Genet.* **23**, 67–73.

Описание методов визуализации, которые применялись для изучения модификации нуклеосом, определения местоположения нуклеосом и других аспектов строения хромосом в масштабах геномов.

Sarma, K. & Reinberg, D. (2005) Histone variants meet their match. *Nat. Rev. Mol. Cell Biol.* **6**, 139–149.

Segal, E., Fondufe-Mittendorf, Y., Chen, L., Thåström, A., Field, Y., Moore, I. K., Wang, J. Z., & Widom, J. (2006) A genomic code for nucleosome positioning. *Nature* **442**, 772–778.

Thanbichler, M., Wang, S. C., & Shapiro, L. (2005) The bacterial nucleoid: a highly organized and dynamic structure. *J. Cell. Biochem.* **96**, 506–521.

Wyman, C. & Kanaar, R. (2002) Chromosome organization: reaching out to embrace new models. *Curr. Biol.* **12**, R446–R448.

Хороший краткий обзор строения и функций SMC-белков.

Вопросы и задачи

1. Упаковка ДНК в вирусах. Молекулярная масса ДНК бактериофага T2 составляет $120 \cdot 10^6$; эта молекула ДНК упакована в головку бактериофага длиной 210 нм. Подсчитайте длину ДНК (определите молекулярную массу, зная, что в геноме 650 пар нуклеотидов) и сравните ее с размером головки T2.

2. ДНК фага M13. Нуклеотидный состав ДНК фага M13: 23% A, 36% T, 21% G, 20% C. Что на основании этих данных можно сказать о ДНК фага M13?

3. Геном *Mycoplasma*. Полный геном самой маленькой бактерии *Mycoplasma genitalium* состоит из 580 070 п. н. и организован в виде кольцевой молекулы ДНК. Определите молекулярную массу и длину (в релаксированном состоянии) этой молекулы. Чему равно Lk_0 хромосомы *Mycoplasma*? Если $\sigma = -0,06$, чему равно Lk ?

4. Размер генов эукариот. Фермент, выделенный из печени крысы, содержит 120 аминокислотных остатков и кодируется геном, размер которого 1440 п. н. Объясните связь между числом ами-

нокислотных остатков в ферменте и числом пар нуклеотидов в его гене.

5. Порядок зацепления. Молекула замкнутой кольцевой ДНК в релаксированной форме имеет $Lk = 500$. Оцените приблизительно число пар нуклеотидов в этой ДНК. Как изменяется порядок зацепления (увеличивается, уменьшается, не изменяется, нельзя определить), если: (а) белковый комплекс присоединен к нуклеосоме; (б) одна нить ДНК разорвана; (в) к раствору ДНК добавлены ДНК-гираза и АТР; (г) двойная спираль денатурирована нагревом?

6. Топология ДНК. В присутствии эукариотического конденсина и топоизомеразы типа II Lk релаксированной замкнутой кольцевой ДНК не изменяется. Однако в ней появляется множество узлов.



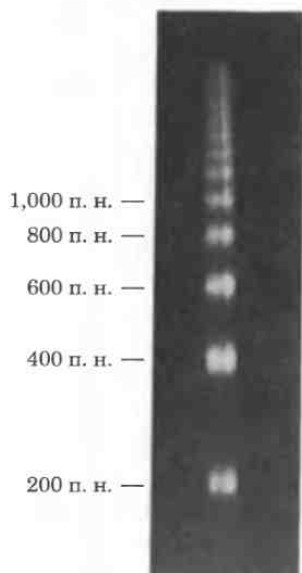
Образование узлов требует разрыва ДНК, прохождения участка ДНК через разрыв и лигирования под действием топоизомеразы. Учитывая, что топоизомеразная реакция должна сопровождаться изменением порядка зацепления, объясните сохранение величины Lk .

7. Плотность суперскрученной ДНК. Бактериофаг λ инфицирует *E. coli*, интегрируя свою ДНК в бактериальную хромосому. Успех такой рекомбинации зависит от топологии ДНК *E. coli*. Если плотность сверхвитков ДНК *E. coli* $\sigma > -0,045$, вероятность интеграции менее 20%; если $\sigma < -0,06$ — вероятность превышает 70%. Установлено, что длина плазмидной ДНК, выделенной из культуры *E. coli*, составляет 13 800 п. н., а $Lk = 1222$. Рассчитайте σ для этой ДНК и предскажите вероятность того, что бактериофаг λ сможет инфицировать эти клетки.

8. Изменение порядка зацепления. (а) Чему равно Lk кольцевой двухцепочечной молекулы

ДНК размером 5000 п. н. с разрывом (ником) в одной цепи? (б) Чему равно Lk молекулы из задания (а) после лигирования разрыва (релаксации)? (в) Как могло бы измениться Lk молекулы из задания (б) в результате действия одной молекулы топоизомеразы I *E. coli*? (г) Чему равно Lk молекулы из задания (б) после восьми актов действия одной молекулы фермента ДНК-гиразы в присутствии АТР? (д) Чему равно Lk молекулы из задания (г) после четырех актов действия одной молекулы бактериальной топоизомеразы I? (е) Чему равно Lk молекулы из задания (г) после связывания одной нуклеосомы?

9. Хроматин. Экспериментальные доказательства, которые помогли определить структуру нуклеосом, были получены методом электрофореза на агарозном геле (электрофореграмма приведена ниже), полосы в котором соответствуют молекулам ДНК. Образцы для электрофореза были получены путем мягкой обработки хроматина ферментом, разрушающим ДНК, с последующим удалением всех белков. Сбоку указаны позиции, до которых перемещаются линейные фрагменты ДНК соответствующего размера. Что на основании этих данных можно сказать о структуре хроматина? Почему полосы ДНК толстые и размытые, а не узкие и концентрированные?



10. Структура ДНК. Объясните, как частичное раскручивание спирали В-ДНК может облегчить или стабилизировать формирование Z-ДНК.

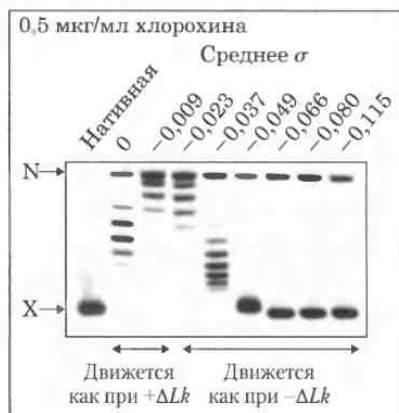
11. Поддержание структуры ДНК. (а) Назовите два структурных свойства, необходимых для поддержания отрицательной сверхспирализации молекулы ДНК. (б) Назовите три изменения структуры, которые происходят легче при отрицательной сверхспирализации ДНК. (в) Какой фермент при участии АТР может вносить в ДНК отрицательные супервитки? (г) Опишите физический механизм действия этого фермента.

12. Искусственные хромосомы дрожжей (YAC). YAC применяются для клонирования крупных участков ДНК в дрожжевых клетках. Какие три типа последовательностей ДНК необходимы для правильной репликации и воспроизведения YAC в дрожжевой клетке?

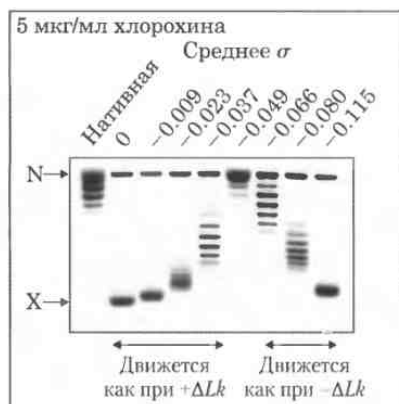
13. Структура бактериального нуклеоида. У бактерий транскрипция групп генов зависит от топологии ДНК: при релаксации ДНК экспрессия может усиливаться, но чаще ослабевает. При расщеплении бактериальной хромосомы специфическим ферментом рестрикции (который узнает и расщепляет длинные и, следовательно, редко встречающиеся последовательности) происходит усиление или ослабление экспрессии только расположенных поблизости генов (в пределах 10 000 п. н.). Транскрипция других генов хромосомы не изменяется. Объясните этот факт. (Подсказка. См. рис. 24-37).

14. Топоизомеры ДНК. При электрофоретическом разделении ДНК в агарозном геле короткие фрагменты движутся быстрее длинных фрагментов. Кольцевые молекулы ДНК одинакового размера, но с разным числом сшивок также можно разделить в агарозном геле: сильно скрученные и, следовательно, более компактные топоизомеры движутся быстрее (сверху вниз на гелях справа). К гелям добавили краситель хлорохин, который встраивается между парами оснований и стабилизирует наиболее слабо скрученные молекулы ДНК. При связывании красителя с релаксированной формой кольцевой ДНК происходит ослабление скрученности ДНК в тех участках, где связался краситель, а в других участках возникают компенсирующие положительные сверхвитки. В представленном здесь эксперименте с помощью топоизомераз готовили образцы одной и той же кольцевой ДНК с разной плотностью сверхспи-

рализации (σ). Полностью релаксированная ДНК мигрировала до положения N (*nicked*), а сильно скрученная ДНК (за пределом, где можно различить отдельные топоизомеры) — до положения X.



Гель А



Гель В

а) Почему в геле А на дорожке с $\sigma = 0$ (т. е. в образце ДНК, в котором в среднем $\sigma = 0$) видно несколько полос?

б) Отрицательные или положительные сверхвитки несет ДНК в геле В из образца с $\sigma = 0$ в присутствии интеркалирующего красителя?

в) В обоих гелях на дорожке с $\sigma = -0,115$ видны две полосы: одна соответствует сверхспирализованной ДНК, другая — релаксированной ДНК. Объясните присутствие релаксированной ДНК в этом и других образцах.

г) Образец нативной ДНК (крайняя левая дорожка в каждом геле) представляет собой ту же кольцевую ДНК, выделенную из бактериальных клеток, но не обработанную топоизомеразой. Какова приблизительная плотность сверхспирализации этой нативной ДНК?

Анализ экспериментальных данных

15. Функциональные элементы дрожжевых хромосом. На рис. 24–9 представлены основные структурные элементы хромосом пивных дрожжей (*Saccharomyces cerevisiae*). Хейтер, Манн, Снайдер и Дэвис (1985) определили свойства некоторых из этих элементов. Их эксперимент был основан на наблюдении, что в клетках дрожжей при митозе плазмиды (содержащие гены и точку начала репликации) ведут себя не так, как хромосомы (содержащие те же элементы, а также центромеры и теломеры). Плазмиды не контролируются митотическим аппаратом и распределяются между дочерними клетками случайным образом. В отсутствие селективного маркера, заставляющего хозяйскую клетку удерживать плазмиды (см. рис. 9-4 в т. 1), они быстро теряются. Напротив, хромосомы контролируются митотическим аппаратом и даже без селективных маркеров утрачиваются крайне редко (с частотой около 10^{-5} на одно деление).

Хейтер с коллегами решили выявить наиболее важные элементы дрожжевых хромосом. Для этого они сконструировали плазмиды, содержащие различные части хромосом, и наблюдали за тем, правильно ли осуществляется расхождение этих «синтетических хромосом» при митозе. Для определения количества аномально распределенных хромосом потребовался быстрый метод анализа, позволяющий подсчитывать число копий синтетических хромосом в различных клетках. Они выбрали метод, основанный на том, что колонии дрожжей дикого типа на питательной среде имеют белую окраску, тогда как колонии некоторых нуждающихся в аденине (*ade⁻*) мутантов окрашены в красный цвет. В частности, в клетках *ade2⁻* нет функциональной AIR-карбоксилазы (фермент, катализирующий стадию 6a на рис. 22–33) и в их цитоплазме накапливается AIR (5-аминоимидазолрибонуклеотид). Избыток AIR превращается в красный пигмент. Кроме того, в исследовании использовали ген *SUP11*, кодирующий охра-супрессор (тип нонсенс-супрессора; см. доп. 27–4), подавляющий проявление фенотипа некоторых *ade2⁻* мутантов. Хейтер с соавторами начали с изучения диплоидного штамма дрожжей, гомозиготного по мутации *ade2⁻*; у этих клеток красная окраска. Если эти мутантные клетки несут одну копию *SUP11*, метаболический дефект частично подавля-

ется, и клетки становятся розовыми. Если в клетке две или более копий *SUP11*, дефект подавляется полностью, и клетки окрашены в белый цвет.

Исследователи вставляли копию *SUP11* в синтетические хромосомы, содержащие различные элементы, которые считались необходимыми для функционирования хромосом, а затем наблюдали за тем, насколько успешно хромосомы передаются от одного поколения к следующему. На неселективные среды высевали розовые клетки и наблюдали за поведением синтетических хромосом. В частности, были обнаружены колонии, в которых синтетические хромосомы распределялись неправильно при первом делении после посева, давая колонии, в которых половина генов относилась к одному типу, а половина — к другому. Поскольку клетки дрожжей неподвижны, колонии были окрашены секторами: половина в один цвет, половина — в другой.

а) Один из механизмов, объясняющих *нерасхождение* хромосом при митозе, состоит в том, что хромосомы реплицируются, однако сестринские хроматиды не могут разделиться, так что обе копии хромосомы попадают в одну и ту же дочернюю клетку. Объясните, каким образом нерасхождение синтетических хромосом могло бы привести к образованию двухцветных красно-белых колоний.

(б) Другой вариант нарушения митоза — *потеря хромосомы*: хромосома не входит в ядро дочерней клетки или не реплицируется. Объясните, каким образом потеря синтетической хромосомы могла бы привести к образованию двухцветных красно-розовых колоний.

Подсчет колоний разного типа позволил Хейтеру с соавторами оценить частоту нарушений митоза для различных типов синтетических хромосом. Сначала они попытались установить необходимый размер центромерного фрагмента с помощью синтетических хромосом со вставками ДНК разной длины, содержащими известную центромеру. Результаты эксперимента представлены ниже.

Синтетическая хромосома	Размер фрагмента, содержащего центромеру, т. п. н.	Потеря хромосомы, %	Нерасхождение, %
1	Отсутствует	—	>50
2	0,63	1,6	1,1
3	1,6	1,9	0,4
4	3	1,7	0,35
5	6	1,6	0,35

в) На основании представленных данных сделайте заключение о размере центромерного фрагмента, необходимого для нормального расхождения хромосом. Объясните свои рассуждения.

г) Интересно, что все созданные в этих экспериментах синтетические хромосомы были кольцевыми и не содержали теломер. Объясните, каким образом они могли более или менее правильно реплицироваться.

Далее Хейтер с коллегами сконструировали набор линейных синтетических хромосом, содержащих функциональные центромерные последовательности и теломеры, и определяли общее количество нарушений митоза (% потерь хромосомы + % нерасхождений) как функцию размера хромосомы. Результаты эксперимента представлены ниже.

Синтетическая хромосома	Размер, т. п. н.	Общее число ошибок, %
6	15	11
7	55	1,5
8	95	0,44
9	137	0,14

д) На основании этих данных сделайте вывод о размере хромосомы, необходимом для нормального расхождения. Объясните свои рассуждения.

е) Нормальные хромосомы дрожжей линейны, их длина составляет от 250 до 2000 т. п. н., а частота нарушений митоза не превышает 10^{-5} на одно клеточное деление. Используя эти данные ответьте на вопрос: обеспечивали ли использовавшиеся в экспериментах центромерные и теломерные последовательности стабильность митоза нормальных дрожжевых хромосом, или для этого процесса нужны каких-то другие элементы? Объясните свои рассуждения. (Подсказка. Рассмотрите график зависимости логарифма числа ошибок от длины хромосомы.)

Литература

Heiter, P., Mann, C., Snyder, M., & Davis, R.W. (1985) Mitotic stability of yeast chromosomes: a colony color assay that measures nondisjunction and chromosome loss. *Cell* 40, 381–392.

Метаболизм ДНК

25.1. Репликация ДНК 45

25.2. Репарация ДНК 66

25.3. Рекомбинация ДНК 81

В качестве хранилища генетической информации ДНК занимает центральное место среди биологических макромолекул. Нуклеотидная последовательность ДНК кодирует первичную структуру всех молекул клеточной РНК и белков и через ферменты опосредованно влияет на синтез всех других клеточных компонентов. Переход информации от ДНК к РНК и белку определяет размер, форму и жизнедеятельность всех живых существ.

ДНК прекрасно обеспечивает стабильное хранение генетической информации. Однако понятие «стабильное хранение» означает статичную неизменную картину. Оно не отражает сложности процессов, с помощью которых генетическая информация сохраняется и передается от одного поколения клеток к следующему. Метаболизм ДНК включает как процессы точного копирования молекул (репликация), так и процессы, которые влияют на саму структуру, несущую информацию (репарация и рекомбинация). Именно эти процессы мы и рассмотрим в данной главе.

Метаболизм ДНК должен происходить идеально точно. Химические реакции присоединения одного нуклеотида к другому при репликации ДНК элегантны и на удивление просты. Сложности, как мы увидим далее, в ферментативном аппарате, обеспечивающем точность

передачи генетической информации. Ошибки, возникающие при синтезе ДНК, могут привести к серьезным последствиям, причем не только потому, что они изменяют или нарушают функцию определенного гена, но и потому, что такое изменение передается по наследству.

Ферменты, участвующие в синтезе ДНК, копируют молекулы ДНК, содержащие миллионы оснований. Они проделывают это с необыкновенной точностью и скоростью, несмотря на то что ДНК очень компактно упакована и связана с другими белками. Образование фосфодиэфирных связей между нуклеотидами в растущей цепи ДНК — только часть сложного процесса, в котором задействовано множество белков и ферментов.

Задача сохранения генетической информации лежит в основе процесса репарации ДНК. В гл. 8 (т. 1) подробно описана чувствительность ДНК ко многим разрушительным воздействиям. Такие воздействия происходят нечасто, но они играют очень важную роль, поскольку устойчивость организмов к изменениям последовательности ДНК очень низкая. ДНК — единственная макромолекула, для которой предусмотрена система репарации; количество, разнообразие и сложность механизмов репарации отражает многообразие пагубных для ДНК воздействий.

Клетки могут перестраивать хранящуюся в них генетическую информацию в процессах под общим названием «рекомбинация». Казалось бы, процесс рекомбинации подрывает принцип первостепенного значения стабильности и целостности генетической информации. Однако на самом деле большинство перестроек ДНК играет конструк-

тивную роль в поддержании целостности генома, специфическим образом влияя на репликацию и репарацию ДНК и расхождение хромосом.

В этой главе особое внимание уделяется ферментам метаболизма ДНК. Они заслуживают

внимательного изучения не только ввиду их большого биологического значения и чисто научного интереса, но и в связи с их возрастающей ролью в качестве лекарственных препаратов в медицине и в качестве инструментов в широком круге совре-

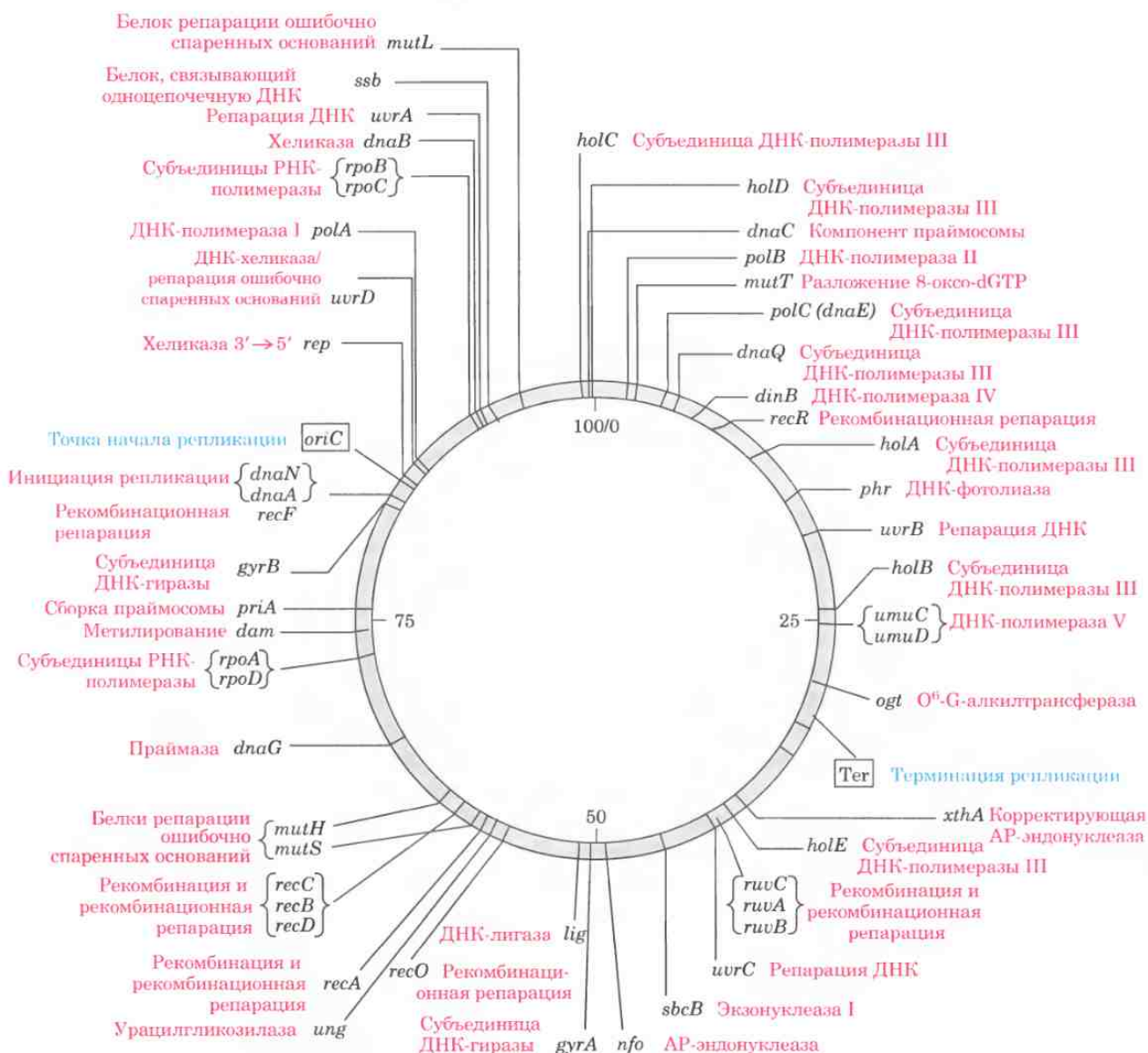


Рис. 25-1. Хромосомная карта *Escherichia coli*. Показано расположение генов, кодирующих многие важные для метаболизма ДНК белки. Количество известных генов, участвующих в метаболизме ДНК, свидетельствует о сложности этих процессов. Числа от 0 до 100 внутри кольцевой хромосомы соответствуют генетическим единицам измерения, называемым минутами. Каждая минута соответствует отрезку молекулы ДНК длиной примерно 40 000 п. н. Трехбуквенные названия генов обычно отражают некоторые аспекты их функции, к примеру *mut* — мутагенез; *dna* — репликация ДНК; *pol* — ДНК-полимераза; *rpo* — РНК-полимераза; *uvr* — устойчивость к УФ; *rec* — рекомбинация; *dam* — метилирование аденина; *lig* — ДНК-лигаза; *Ter* — терминация репликации; *ori* — точка начала репликации (у *E. coli* это *oriC*, как на рисунке).

менных биохимических технологий. Многие ценные открытия в области метаболизма ДНК были сделаны на клетках *Escherichia coli*, поэтому для объяснения основ метаболизма обычно в качестве примера служат хорошо известные ферменты этой бактерии. Беглый взгляд на некоторые важные гены на генетической карте *E. coli* (рис. 25-1) позволяет представить себе сложность ферментных систем, участвующих в метаболизме ДНК.

Прежде чем перейти к детальному изучению процесса репликации, сделаем короткое отступление и поговорим о принятых сокращениях названий бактериальных генов и белков, поскольку со многими из них нам предстоит встретиться в этой и последующих главах. Аналогичные договоренности используются и в обозначениях эукариотических генов, хотя конкретное сокращение может зависеть от вида организма, и единого правила для всех эукариотических систем не существует.

КЛЮЧЕВЫЕ ДОГОВОРЕННОСТИ. Бактериальные гены обычно обозначают тремя строчными буквами курсивом, и, как правило, название отражает функцию этих генов. Например, *dna*, *uvr* и *rec* гены отвечают за репликацию ДНК, устойчивость к поражающему действию УФ-облучения и рекомбинацию соответственно. Если несколько генов отвечают за одну и ту же функцию, они дополнительно обозначаются буквами А, В, С и т. д., например *dnaA*, *dnaB*, *dnaQ*, что обычно указывает на порядок их открытия, а не порядок участия в цепи реакций. ■

Использование сокращений в названиях белков менее очевидно. В ходе генетических исследований обычно выделяют и характеризуют белковые продукты каждого гена. Многие бактериальные гены были идентифицированы и названы до того, как выяснилось значение их белковых продуктов. Иногда оказывается, что продукт гена — это уже известный белок, и его приходится переименовывать. Однако часто бывает, что продукт гена еще неизвестен и обладает активностью, которую нельзя описать обычным названием фермента.

КЛЮЧЕВЫЕ ДОГОВОРЕННОСТИ. Бактериальные белки часто сохраняют названия соответствующих генов. Названия белков *E. coli* пишутся прямым шрифтом с заглавной буквы, например белковые продукты генов *dnaA* и *recA* называются DnaA и RecA соответственно. ■

25.1. Репликация ДНК

Задолго до установления структуры ДНК ученых удивляла способность организмов воссоздавать самих себя и способность клеток образовывать много идентичных копий крупных и сложных макромолекул. Рассуждения на эту тему концентрировались вокруг концепции **матрицы** — структуры, которая позволяет молекулам соединяться в определенном порядке и образовывать макромолекулу с уникальной последовательностью и функцией. В 1940-е гг. уже сложилось представление о том, что носителем генетической информации является ДНК, но только когда Джеймс Уотсон и Фрэнсис Крик установили ее структуру, стало понятно, каким образом ДНК играет роль матрицы для репликации и передает генетическую информацию: дело в том, что *одна ее цепь комплементарна другой*. Основания образуют пары по определенным правилам, и каждая цепь является матрицей для новой цепи с предсказуемой комплементарной последовательностью (см. рис. 8-14, 8-15 в т. 1). ● **Нуклеотиды: строительные блоки нуклеиновых кислот**

Было доказано, что основные свойства процесса репликации ДНК и каталитические механизмы этого процесса в значительной степени идентичны у всех видов организмов. Именно это единство механизмов мы постараемся подчеркнуть в нашем обсуждении, продвигаясь от общих основ процесса репликации к ферментам репликации *E. coli* и, наконец, к репликации эукариот.

Основные принципы репликации ДНК

В ранних исследованиях репликации бактериальной ДНК и ее ферментов было установлено несколько базовых принципов, на которых основан синтез ДНК у всех живых существ.

Репликация ДНК полуконсервативна. Каждая цепь ДНК служит матрицей для синтеза новой цепи, при этом образуются две новые двухцепочечные молекулы ДНК, каждая из которых состоит из одной новой и одной старой цепей. Поэтому процесс называется **полуконсервативной репликацией**.

Уотсон и Крик выдвинули гипотезу полуконсервативной репликации вскоре после публи-

кации своей статьи о структуре ДНК с 1953 г.; в 1957 г. эта гипотеза была подтверждена Мэтью Мезельсоном и Франклином Сталем, которые искусно провели следующие эксперименты. Мезельсон и Сталь культивировали клетки *E. coli* на протяжении многих генераций в среде, в которой единственный источник азота (NH_4Cl) содержал тяжелый изотоп азота ^{15}N вместо наиболее распространенного легкого изотопа ^{14}N . Плотность выделенной из этих клеток ДНК примерно на 1% больше, чем у обычной [^{14}N] ДНК (рис. 25-2, а).

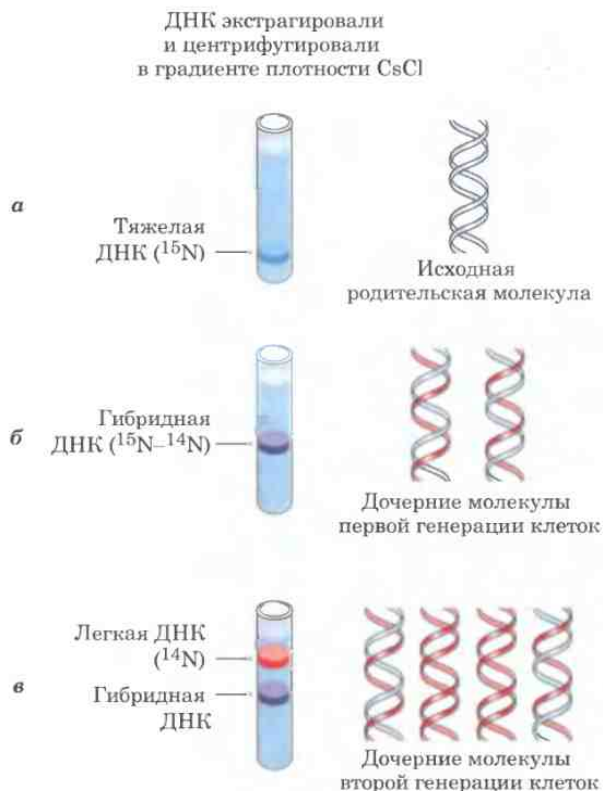


Рис. 25-2. а — несколько поколений клеток выращивали в среде, содержащей только тяжелый азот ^{15}N , поэтому в ДНК этих клеток содержался исключительно азот ^{15}N , что показано в виде одной (синей) полосы, образующейся при центрифугировании в градиенте плотности CsCl. б — клетки переносили на среду, содержащую только легкий азот ^{14}N , и после первого деления клеток выделяли ДНК, которая в градиенте хлорида цезия образовывала более высокую (фиолетовую) полосу. в — после второго цикла репликации ДНК разделялась на две полосы: гибридную (фиолетовую) и еще более легкую (красную), содержащую только ДНК с ^{14}N , что подтверждало полуконсервативный характер репликации.

Несмотря на столь небольшое различие, смесь тяжелой [^{15}N] ДНК и легкой [^{14}N] ДНК можно разделить центрифугированием в градиенте плотности хлорида цезия.

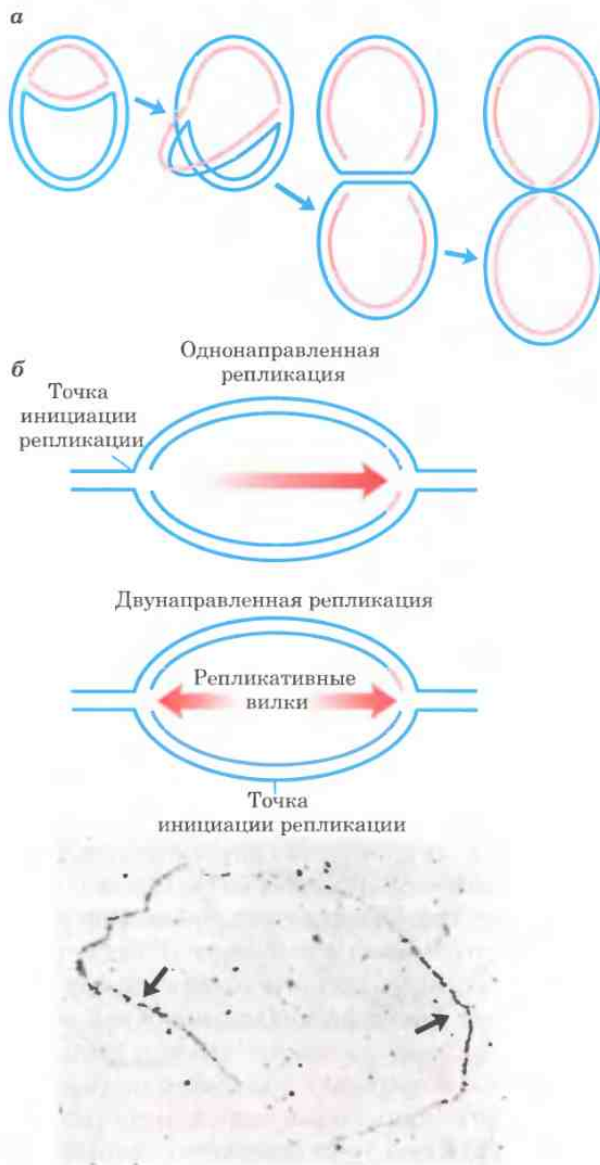
Клетки *E. coli*, выращенные на среде с ^{15}N , переносили на свежую питательную среду, содержащую только изотоп ^{14}N , где клетки продолжали расти до тех пор, пока численность популяции не удваивалась. ДНК, выделенную из этой первой генерации клеток, центрифугировали в градиенте CsCl и наблюдали *единственную* полосу, положение которой свидетельствовало о том, что двухспиральная ДНК дочерних клеток представляет собой гибрид, содержащий одну новую цепь с ^{14}N и одну родительскую цепь с ^{15}N (рис. 25-2, б).

Представленные результаты опровергли альтернативную теорию консервативной репликации, согласно которой одна дочерняя молекула ДНК содержит две вновь синтезированные цепи, а другая дочерняя молекула — две родительские цепи; если бы эта теория была верна, в эксперименте Мезельсона–Сталля не было бы гибридной ДНК. Гипотеза полуконсервативной репликации дополнительно подтверждалась на следующем этапе эксперимента (рис. 25-2, в). После второго деления и удвоения клеток на среде с ^{14}N из них была выделена ДНК, разделившаяся в градиенте хлорида цезия на *две* полосы: одна по плотности соответствовала легкой ДНК, а другая — гибридной ДНК, полученной после первого деления клеток.

Репликация начинается в точке начала репликации и обычно идет в двух направлениях. После доказательства полуконсервативного механизма репликации возникло множество вопросов. Полностью ли раскручивается родительская ДНК до начала репликации каждой цепи? Начинается ли репликация в случайной или в какой-то особой точке? После инициации в какой-то точке репликация происходит в одном направлении или в двух?

В ранних исследованиях Джона Кэрнса, проведенным с помощью метода автордиографии, удалось доказать, что репликация — высококоординированный процесс, в котором родительские цепи одновременно расплетаются и реплицируются. Кэрнс получил радиоактивную ДНК *E. coli*, для чего культивировал эту бактерию на среде с

Рис. 25-3. Выявление двунаправленного характера репликации ДНК. *а* — во время репликации кольцевой хромосомы образуется структура, напоминающая греческую букву тета (Θ), так как обе нити реплицируются одновременно (новая нить показана красным цветом). *б* — репликация может происходить в одном или в обоих направлениях, что можно установить с помощью авторадииграфии: при внесении ^3H на короткий период непосредственно перед прекращением реакции метка (отмечена красным) обнаруживается в одной или в двух репликативных вилках соответственно. Так была продемонстрирована двунаправленность репликации у *E. coli*, *Bacillus subtilis* и других бактерий. На авторадииграмме показан репликационный «глазок» в ДНК *B. subtilis*. Самая большая плотность зерен серебра (стрелки) наблюдается именно в тех двух местах, где происходит репликация. Не подвергшаяся репликации часть хромосомы, находящаяся вне глазка, не содержит метки и поэтому невидима.



меченным тритием (^3H) тимидином. ДНК была аккуратно выделена, покрыта слоем фотографической эмульсии и оставлена так на несколько недель; за это время радиоактивный тимидин оставил в фотоэмульсии «следы» — зерна серебра, создав фотоотпечаток молекулы ДНК. По этим отпечаткам видно, что интактная хромосома *E. coli* представляет собой единую гигантскую кольцевую структуру длиной 1,7 мм. В радиоактивной ДНК, выделенной из клеток во время репликации, кроме того, была обнаружена дополнительная петля (рис. 25-3, *а*). Кэрнс сделал вывод, что петля образуется в результате формирования двух радиоактивных дочерних цепей, каждая из которых комплементарна родительской цепи. На одном или на обоих концах петли движется **репликативная вилка**, в которой родительская ДНК раскручивается, позволяя реплицироваться разделившимся цепям. Согласно полученным Кэрнсом данным, обе цепи ДНК реплицируются одновременно, а различные варианты его эксперимента (рис. 25-3, *б*) показали, что репликация бактериальных хромосом двунаправленная: на обоих концах петли расположены активные репликативные вилки.

Чтобы выяснить, образуются ли репликативные вилки в каком-то определенном участке ДНК, необходимо было установить по всей длине молекулы некие реперные точки. Это было сделано с помощью метода **денатурирующего**

картирования, разработанного Россом Иманом с коллегами. С помощью хромосомы бактериофага λ длиной 48 502 п. н. было показано, что можно вызвать избирательную денатурацию ДНК в последовательностях с необычно высоким содержанием пар А=Т, получая воспроизводимую картину одноцепочечных глазков (см. рис. 8-28 в т. 1). Таким же образом можно частично денатурировать выделенную ДНК, содержащую репликативные петли. Это позволяет измерить и картировать положение и движение репликативных вилок, используя денатурированные области в качестве реперных точек. С помощью данного ме-

тогда было показано, что в этой системе репликативные петли всегда возникают в особых точках, которые были названы **точками начала репликации (ориджинами)**. Получил подтверждение и выявленный ранее двунаправленный характер репликации. У кольцевых молекул ДНК две репликативные вилки встречаются в точке, расположенной напротив точки начала репликации. Специфические точки начала репликации с тех пор были идентифицированы и охарактеризованы у бактерий и низших эукариот.

Синтез ДНК наполовину прерывистый и проходит в направлении $5' \rightarrow 3'$. Новая цепь ДНК всегда синтезируется в направлении $5' \rightarrow 3'$, т. е. приращение ДНК происходит со стороны свободной ОН-группы на 3'-конце (строение 5'- и 3'-концов цепи ДНК см. на рис. 8-7 в т. 1). Поскольку две цепи ДНК антипараллельны, цепь, служащая в качестве матрицы, считывается с 3'-конца в направлении к 5'-концу.

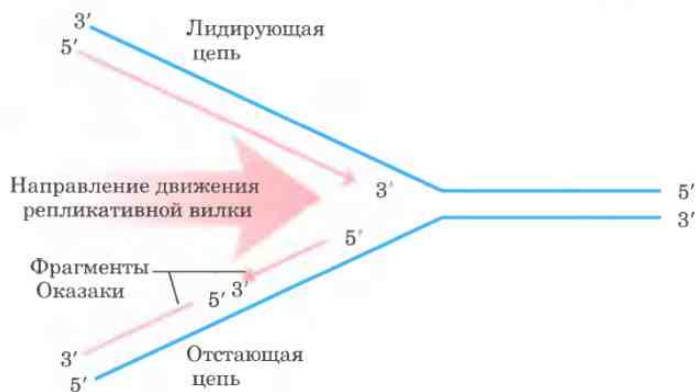
Но если синтез ДНК всегда происходит в направлении $5' \rightarrow 3'$, как могут обе цепи синтезироваться одновременно? Если обе цепи синтезируются *непрерывно*, пока движется репликативная вилка, одна цепь должна синтезироваться в направлении $3' \rightarrow 5'$. Эту проблему в 1960-х гг. разрешил Рейджи Оказаки с коллегами. Они обнаружили, что одна из новых цепей ДНК синтезируется в виде коротких отрезков, которые теперь называются **фрагментами Оказаки**. В результате их исследований стало ясно, что одна цепь синтезируется непрерывно, а вторая — прерывисто (**рис. 25-4**). Направление синтеза непрерывной, или **лидирующей**, цепи *совпадает* с направлением движения репликативной вилки. Направле-

ние синтеза прерывистой, или **отстающей**, цепи *противоположно* направлению движения вилки. Фрагменты Оказаки различаются по длине от нескольких сотен до нескольких тысяч нуклеотидов в зависимости от типа клеток. Ниже мы увидим, что синтез лидирующей и отстающей цепей четко координируется.

ДНК разрушается нуклеазами

Чтобы объяснить энзимологию процесса репликации ДНК, сначала рассмотрим ферменты, которые разрушают, а не синтезируют ДНК. Эти ферменты называют **нуклеазами** или **ДНКазами**, если они обладают большей специфичностью к ДНК, чем к РНК. Каждая клетка содержит несколько разных нуклеаз, принадлежащих к двум большим классам: экзонуклеазы и эндонуклеазы. **Экзонуклеазы** расщепляют нуклеиновые кислоты с одного конца молекулы. Многие из них работают только в направлении $5' \rightarrow 3'$ или только в направлении $3' \rightarrow 5'$, удаляя нуклеотиды либо с 5'-конца, либо с 3'-конца одной цепи двуцепочечной молекулы нуклеиновой кислоты или одноцепочечной ДНК. **Эндонуклеазы** начинают расщепление нуклеиновой кислоты со специфических внутренних сайтов, расщепляя цепь на более мелкие фрагменты. Некоторые экзонуклеазы и эндонуклеазы расщепляют только одноцепочечные ДНК. Существует несколько важных классов эндонуклеаз, которые разрушают только определенные нуклеотидные последовательности (например, эндонуклеазы рестрикции, которые имеют очень большое значение в биотехнологии; см. гл. 9, рис. 9-2 в т. 1). В этой и в последующих главах мы встретим много типов нуклеаз.

Рис. 25-4. Различия цепей ДНК на репликативной вилке. Новая цепь ДНК (красная) всегда синтезируется в направлении $5' \rightarrow 3'$. Матрица считывается в противоположном направлении, $3' \rightarrow 5'$. Лидирующая цепь непрерывно синтезируется по направлению движения репликативной вилки. Другая цепь, отстающая, синтезируется прерывисто в виде коротких отрезков (фрагментов Оказаки) в направлении, противоположном тому, в котором движется репликативная вилка. Фрагменты Оказаки сшиваются ДНК-лигазой. У бактерий длина фрагментов Оказаки составляет примерно от 1000 до 2000 нуклеотидов. В клетках эукариот они короче: от 150 до 200 нуклеотидов.



ДНК синтезируется ДНК-полимеразой

Поиск фермента, который может синтезировать ДНК, начался в 1955 г. Артуру Корнбергу с коллегами удалось очистить и охарактеризовать ДНК-полимеразу из клеток *E. coli*. Этот фермент, состоящий из одного полипептида, теперь называют ДНК-полимеразой I ($M_r = 103\,000$; кодируется геном *polA*). Гораздо позже исследователи обнаружили, что *E. coli* содержит еще как минимум четыре другие ДНК-полимеразы, описанные ниже.

При детальном изучении ДНК-полимеразы I были установлены общие для всех ДНК-полимераз характеристики процесса синтеза ДНК. В основной реакции происходит перенос фосфорильных групп. При этом 3'-гидроксильная группа нуклеотида на 3'-конце растущей цепи выступает в роли нуклеофила, атакующего α -фосфор присоединяющегося дезоксинуклеозид-5'-трифосфата (рис. 25-5). В результате высвобождается неорга-



Артур Корнберг, 1918–2007

нический пирогосфат. Основная реакция выглядит следующим образом:



где dNMP и dNTP – дезоксинуклеозид-5'-монофосфат и дезоксинуклеозид-5'-трифосфат соответственно. Реакция происходит с минимальным изменением свободной энергии, поскольку

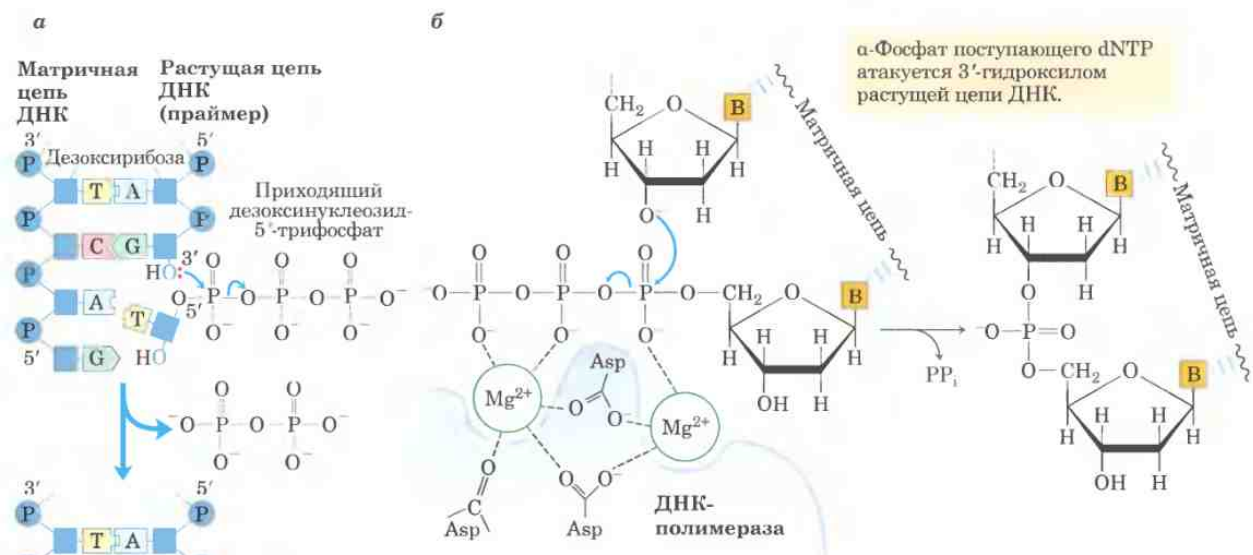


Рис. 25-5. МЕХАНИЗМ РЕАКЦИИ. Элонгация цепи ДНК. а — ДНК-полимераза I нуждается в одной неспаренной цепи в качестве матрицы и в праймере, несущем на 3'-конце свободную гидроксильную группу, к которой присоединяется новое нуклеотидное звено. Каждый присоединяющийся нуклеотид выбирается по принципу комплементарности по отношению к соответствующему нуклеотиду в матричной цепи. Продукт реакции вновь содержит свободную 3'-гидроксильную группу, позволяющую присоединять следующий нуклеотид. б — для катализа, вероятно, требуется два иона Mg^{2+} , координированных с двумя фосфатными группами присоединяющегося нуклеозидтрифосфата и с тремя остатками Asp, два из которых консервативны у всех ДНК-полимераз. Ион Mg^{2+} , изображенный справа, облегчает атаку 3'-гидроксильной группы праймера на α -фосфат нуклеозидтрифосфата, другой ион Mg^{2+} способствует удалению пирогосфата. Оба иона стабилизируют структуру пятикоординатного переходного состояния. По схожему механизму действует и РНК-полимераза (см. рис. 26-1, б).

● Полимеризация нуклеотидов ДНК-полимеразой

одна фосфодиэфирная связь образуется из менее стабильного фосфоангидрида. Нековалентные стэкинг-взаимодействия оснований и их спаривание обеспечивают дополнительную стабилизацию удлиняющейся ДНК по сравнению со свободными нуклеотидами. Кроме того, синтез ДНК приводит к высвобождению в клетке 19 кДж/моль энергии в результате последующего гидролиза пирогосфата под действием фермента пирогосфатазы (с. 38 в т. 2).

Еще в ранних исследованиях ДНК-полимеразы I удалось определить два основных условия, необходимых для полимеризации ДНК. Во-первых, все ДНК-полимеразы нуждаются в матрице. Реакция полимеризации происходит на матрице ДНК согласно правилам комплементарности оснований, установленным Уотсоном и Криком: если в матрице присутствует гуанин, к новой цепи присоединяется дезоксинуклеотид цитозина и т. д. Это открытие имеет очень важное значение не только потому, что оно объясняет химическую основу точной полуконсервативной репликации ДНК, но и потому, что это был первый пример использования матрицы для проведения реакции биосинтеза.

Во-вторых, полимеразы нуждаются в **праймере**. Праймер — это участок цепи (комплементарный матрице) со свободной 3'-гидроксильной группой, к которой может присоединиться нуклеотид. Иначе говоря, перед началом синтеза часть новой цепи уже должна существовать: все ДНК-полимеразы могут присоединять нуклеотиды только к уже существующей цепи. Многие праймеры представляют собой олигонуклеотиды РНК, а не ДНК; специальные ферменты синтезируют праймеры там и тогда, где и когда они требуются.

После присоединения нуклеотида к растущей цепи ДНК ДНК-полимераза либо диссоциирует, либо продвигается вдоль матрицы и присоединяет следующий нуклеотид. Диссоциация и обратное присоединение полимеразы может ограничивать среднюю скорость полимеризации — процесс обычно протекает быстрее, если полимеразы присоединяет нуклеотиды, не покидая матрицы. Среднее число нуклеотидов, присоединенных до диссоциации полимеразы, определяет ее **процессивность**. ДНК-полимеразы существенно различаются по процессивности; некоторые присоединяют всего несколько нуклеотидов до диссоциации, другие присоединяют многие тысячи.

● Полимеризация нуклеотидов ДНК-полимеразой

Репликация — очень точный процесс

Репликация осуществляется с исключительной точностью. У *E. coli* происходит всего одна ошибка на каждые 10^9 – 10^{10} присоединенных нуклеотидов. Для хромосомы *E. coli*, размер которой составляет примерно $4,6 \cdot 10^6$ п. н., это означает, что за 1000–10 000 циклов репликации случается лишь одна ошибка. Во время полимеризации выбор между правильным и неправильным нуклеотидом осуществляется не только по специфичности водородных связей между комплементарными основаниями в парах, но также по геометрии стандартных А=Т и Г=С пар оснований (рис. 25-6). В активном центре ДНК-полимеразы I могут разместиться только пары оснований с правильной геометрией. Неподходящий нуклеотид может образовать водородные связи с нуклеотидом в матрице, но такая пара обычно не попадает в активный центр фермента. Это позволяет отбраковать неправильное основание до того, как сформируется фосфодиэфирная связь.

Однако, чтобы обеспечить высокую степень точности репликации, одной только точности реакции полимеризации недостаточно. Измерения *in vitro* показали, что ДНК-полимераза вставляет один неправильный нуклеотид на 10^4 – 10^5 правильных нуклеотидов. Иногда эти ошибки возникают из-за того, что основание кратковременно находится в нехарактерной таутомерной форме (см. рис. 8-9 в т. 1), что позволяет ему образовать водородные связи не с тем партнером. Число ошибок *in vivo* уменьшается благодаря дополнительным ферментативным механизмам.

Один механизм сокращения числа ошибок свойствен практически всем ДНК-полимеразам и заключается в независимой 3'→5'-экзонуклеазной активности, благодаря которой каждый нуклеотид после присоединения проверяется дважды. Эта нуклеазная активность чрезвычайно чувствительна к аномальному спариванию оснований, что позволяет ферменту удалять ошибочно присоединенный нуклеотид (рис. 25-7). Если полимеразы присоединили неправильный нуклеотид, происходит ингибирование ее перемещения к позиции, в которой должен присоединяться следующий нуклеотид. Эта пауза создает возможность для исправления ошибки. С помощью 3'→5'-экзонуклеазной активности полимеразы

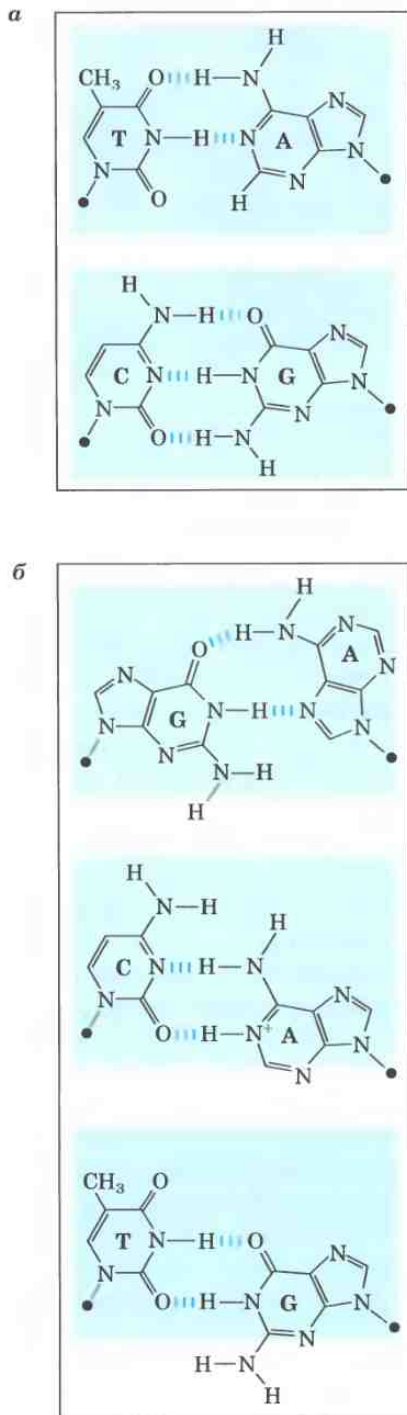


Рис. 25-6. Значение геометрии пар оснований для точности репликации ДНК. **а** — стандартные пары оснований $A=T$ и $G=C$ очень схожи по геометрии, и, если активный центр фермента может вместить одну пару (синяя рамка), то обычно он вмещает и другую. **б** — геометрия аномальных пар отличается, и они не помещаются в активном центре ДНК-полимеразы I.

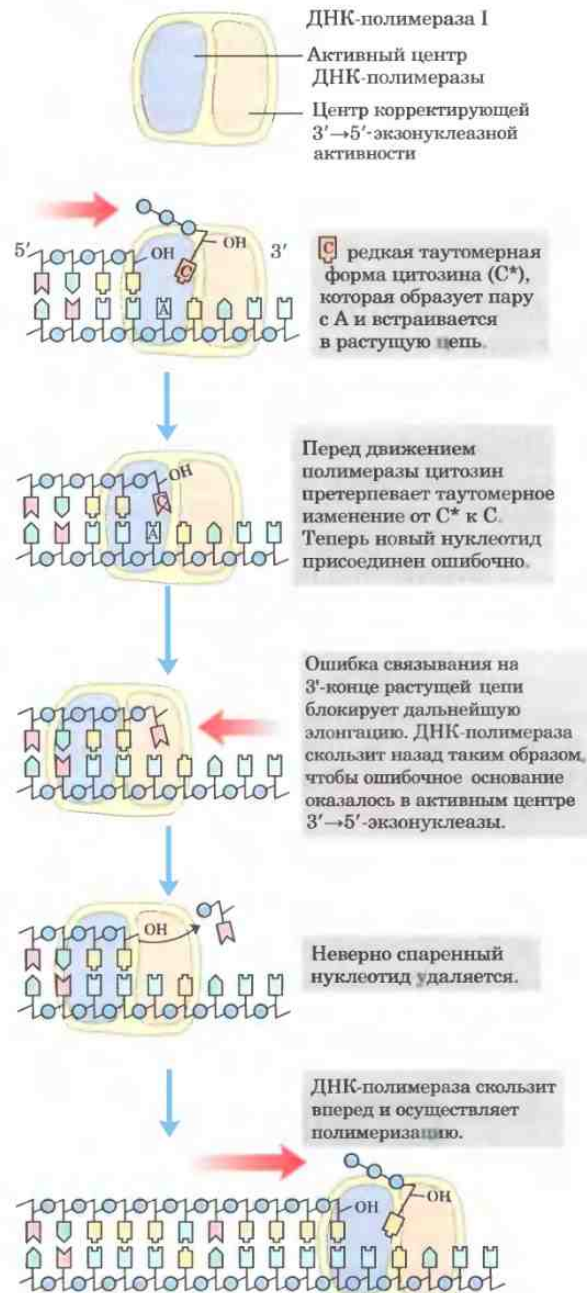


Рис. 25-7. Пример исправления ошибки благодаря $3' \rightarrow 5'$ -экзонуклеазной активности ДНК-полимеразы I. При изучении структуры фермента было установлено, что при ориентации фермента по ходу движения ДНК-центр его экзонуклеазной активности локализован впереди центра полимеразной активности. Ошибочное спаривание (здесь ошибка $C-A$) препятствует транслкации ДНК-полимеразы I в следующее положение. Фермент скользит назад, исправляет ошибку благодаря своей $3' \rightarrow 5'$ -экзонуклеазной активности, а затем возобновляет полимеразную активность в направлении $5' \rightarrow 3'$.

удаляет неправильный нуклеотид и продолжает удлинение цепи. Данная активность, называемая **корректирующей**, не просто обращение полимеразной реакции (уравнение 25-1), ведь в ней не участвует пиррофосфат. Полимеразную и корректирующую активности ДНК-полимеразы можно измерить независимо. Корректирующая активность дополнительно увеличивает точность реакции полимеризации в 10^2 – 10^3 раз. У мономерной ДНК-полимеразы I полимеразная и корректирующая активности локализованы в разных активных центрах в одном и том же полипептиде.

При тщательном подборе оснований в сочетании с исправлением ошибок ДНК-полимераза совершает примерно одну ошибку на 10^6 – 10^8 присоединенных оснований. В реальности измеряемая точность репликации *E. coli* еще выше. Дополнительная точность обеспечивается независимой ферментативной системой, которая заменяет аномальные пары оснований, оставшиеся после репликации. Данный процесс исправления ошибок, наряду с другими процессами репарации ДНК, описан в разд. 25.2.

У *E. coli* не менее пяти ДНК-полимераз

Более 90% ДНК-полимеразной активности в экстрактах *E. coli* связано с функцией ДНК-полимеразы I. Однако вскоре после выделения этого фермента в 1955 г. стали накапливаться сведения

о том, что он не может осуществлять репликацию крупной хромосомы *E. coli*. Во-первых, скорость, с которой фермент присоединяет нуклеотиды (600 нуклеотидов/мин), не соответствует скорости движения репликативной вилки в бактериальной клетке (скорость движения репликативной вилки, как минимум, в 100 раз выше). Во-вторых, ДНК-полимераза I обладает относительно низкой процессивностью. В-третьих, генетические исследования показали, что в репликации участвуют многие гены и, следовательно, многие белки: очевидно, что ДНК-полимераза I действует не в одиночку. В-четвертых, и это особенно важно, в 1969 г. Джон Кэрнс выделил бактериальный штамм с поврежденным геном ДНК-полимеразы I, с которого синтезировался неактивный фермент. Хотя этот штамм был чрезвычайно чувствителен к повреждениям ДНК, тем не менее он был жизнеспособен!

Поиск других ДНК-полимераз привел к открытию в начале 1970-х гг. **ДНК-полимеразы II** и **ДНК-полимеразы III** у *E. coli*. ДНК-полимераза II участвует в одном из механизмов репарации ДНК (разд. 25.3). ДНК-полимераза III — главный фермент репликации у *E. coli*. Свойства трех ДНК-полимераз *E. coli* сравниваются в табл. 25-1. ДНК-полимеразы IV и V, идентифицированные в 1999 г., принимают участие в необычном варианте репарации ДНК (разд. 25.2).

ДНК-полимераза I, таким образом, не главный фермент в репликации; она выполняет функ-

Таблица 25-1 Сопоставление ДНК-полимераз *E. coli*

	ДНК-полимераза		
	I	II	III
Структурный ген ^a	<i>polA</i>	<i>polB</i>	<i>polC (dnaE)</i>
Субъединицы (количество разных типов)	1	7	≥10
Относительная молекулярная масса (M_r)	103 000	88 000 ^b	791 500
3'→5'-экзонуклеаза (коррекция ошибок)	Да	Да	Да
5'→3'-экзонуклеаза	Да	Нет	Нет
Скорость полимеризации (нуклеотиды/с)	16–20	40	250–1000
Процессивность (число нуклеотидов, присоединенных до диссоциации полимеразы)	3–200	1500	≥500 000

^a Для субъединичных ферментов назван ген, кодирующий субъединицу с полимеразной активностью. Ген *dnaE* в настоящее время называется *polC*.

^b Только субъединица, отвечающая за полимеризацию. В составе ДНК-полимеразы II есть те же субъединицы, что и у ДНК-полимеразы III: β-, γ-, δ-, δ'-, χ- и ψ-субъединицы (см. табл. 25-2).

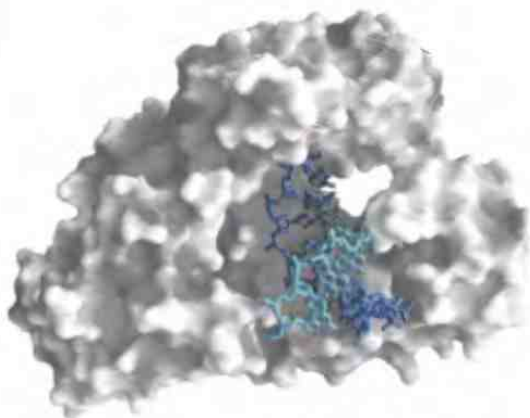


Рис. 25-8. Большой фрагмент ДНК-полимеразы I (фрагмент Клёнова). Эта полимераза широко распространена у бактерий. Фрагмент Клёнова, образующийся в результате протеолитической обработки полимеразы, сохраняет полимеразную и корректирующую активности. Представленный на рисунке фрагмент Клёнова получен из термофильной бактерии *Bacillus stearothermophilus* (PDB ID 3BDP). Активный центр полимеразы находится глубоко в щели около дальнего конца связанной ДНК (синяя; темно-синим цветом изображена матричная цепь).

цию проверки и поддержания порядка во время репликации, рекомбинации и репарации. Особые функции полимеразы дополняются ее $5' \rightarrow 3'$ -экзонуклеазной активностью. Эта активность, отличная от корректирующей $3' \rightarrow 5'$ -экзонуклеазной активности (рис. 25-7), локализована в структурном домене, который может быть отщеплен от фермента в условиях мягкой обработки протеазами. При удалении $5' \rightarrow 3'$ -экзонуклеазного домена остающийся фрагмент ($M_r = 68\,000$), называемый **большим фрагментом**, или **фрагментом Клёнова** (рис. 25-8), сохраняет полимеразную и корректирующую активность. Интактная ДНК-полимераза I благодаря своей $5' \rightarrow 3'$ -экзонуклеазной активности в ходе так называемой **ник-трансляции** может заменить участок ДНК (или РНК), связанный с матричной цепью (рис. 25-9). Большинство других ДНК-полимераз не имеют $5' \rightarrow 3'$ -экзонуклеазной активности.

ДНК-полимераза III устроена намного сложнее, чем ДНК-полимераза I; она состоит из субъединиц десяти разных типов (табл. 25-2). Ее полимеразная и корректирующая активности связаны с α - и ϵ -субъединицами соответственно. При объединении θ -субъединицы с α - и ϵ -субъединицами

образуется кор-фермент, который уже может осуществлять синтез ДНК, но с ограниченной процессивностью. Два кор-фермента полимеразы могут связываться друг с другом посредством еще одного субъединичного комплекса, называемого погрузчиком зажима, или γ -комплексом,

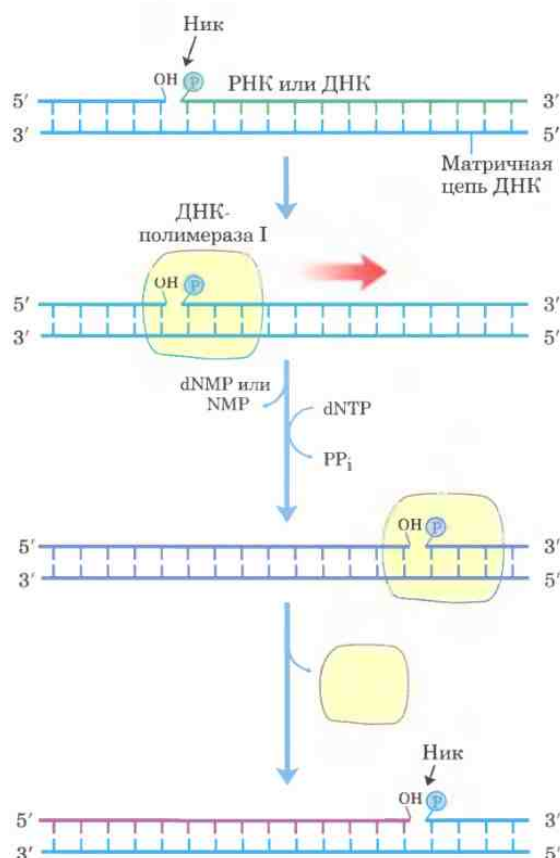


Рис. 25-9. Ник-трансляция. В ходе этого процесса участок РНК или ДНК, спаренный с матричной ДНК, одновременно разрушается под действием $5' \rightarrow 3'$ -экзонуклеазной активности ДНК-полимеразы I и заменяется на новый под действием полимеразной активности того же фермента. Эта функция реализуется в процессе репарации ДНК и при удалении РНК-праймеров в ходе репликации (оба процесса описаны ниже). Цепь нуклеиновой кислоты (ДНК или РНК), подлежащая удалению, показана зеленым, новая цепь — красным. Синтез ДНК начинается с ника (разрыва фосфодиэфирной связи, освобождающего $3'$ -гидроксильную и $5'$ -фосфатную группы). Полимераза I удлиняет нематричную цепь ДНК и перемещает ник вдоль ДНК. Этот процесс называется ник-трансляцией. В месте диссоциации ДНК-полимеразы ник сохраняется и позднее зашивается другим ферментом.

Таблица 25-2 Субъединицы ДНК-полимеразы III *E. coli*

Субъединица	Число субъединиц на целый фермент	M_r субъединицы	Ген	Функция субъединицы	
α	2	129 900	<i>polC (dnaE)</i>	Полимеризная активность	Кор-фермент полимеразы
ϵ	2	27 500	<i>dnaQ (mutD)</i>	Корректирующая 3'→5'-экзонуклеаза	
θ	2	8600	<i>holE</i>	Стабилизация ϵ -субъединицы	
τ	2	71 100	<i>dnaX</i>	Стабильное связывание с матрицей; димеризация кор-фермента	Погрузчик зажима (γ -комплекс), который погружает β -субъединицы на каждый фрагмент Оказaki отстающей цепи
γ	1	47 500	<i>dnaX^a</i>	Загружает зажим	
δ	1	38 700	<i>holA</i>	Открывает зажим	
δ'	1	36 900	<i>holB</i>	Загружает зажим	
χ	1	16 600	<i>holC</i>	Взаимодействие с SSB	
ψ	1	15 200	<i>holD</i>	Взаимодействие с γ и χ	
β	4	40 600	<i>dnaN</i>	Зажим ДНК; необходим для оптимальной процессивности	

^a γ -Субъединицу кодирует часть гена τ -субъединицы, так что 66% τ -субъединицы с N-конца совпадают по аминокислотной последовательности с γ -субъединицей. γ -Субъединица образуется в результате смещения рамки считывания при трансляции (см. рис. 27-9), что приводит к преждевременной остановке трансляции.

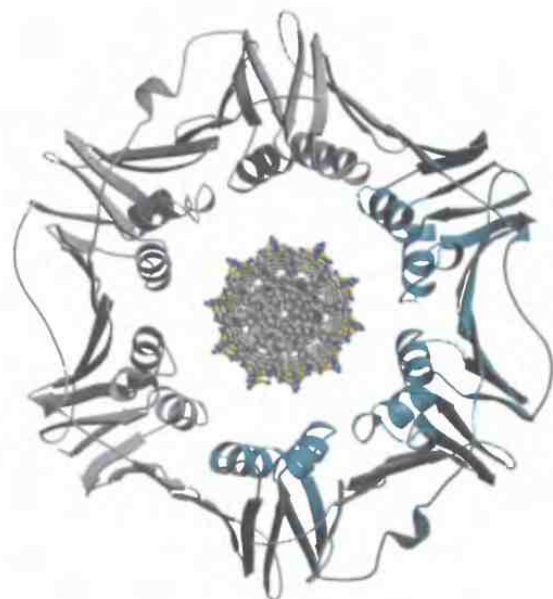
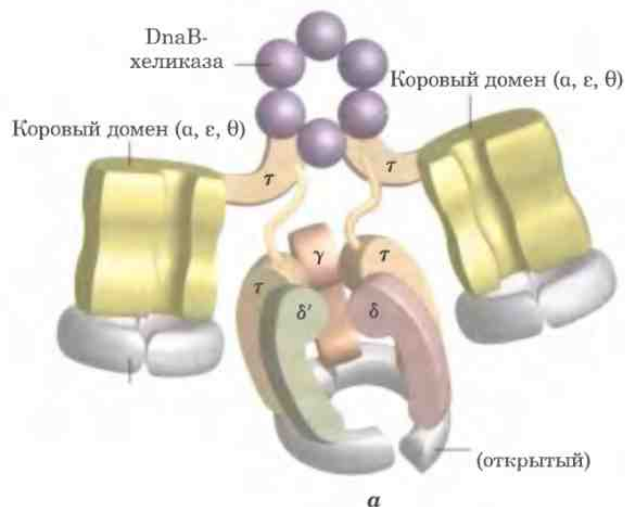
состоящим из пяти субъединиц четырех разных типов $\tau_2\gamma\delta\delta'$. Кор-ферменты связаны через τ -субъединицы. Две дополнительные единицы χ и ψ , присоединены к погрузчику зажима. Полный набор из 13 белковых субъединиц (деяти разных типов) называется ДНК-полимеразой III* (рис. 25-10, а).

ДНК-полимераза III* способна полимеризовать ДНК, но с намного меньшей процессивностью, чем нужно для организованной репликации целой хромосомы. Необходимое увеличение процессивности обеспечивается присоединением четырех β -субъединиц с образованием полного фермента ДНК-полимеразы III. β -Субъединицы объединяются в пары и формируют структуры в форме бубликов, которые охватывают молекулы ДНК, как зажимы (рис. 25-10, б). Каждый димер связывается с кор-ферментом полимеразы III* (один димерный зажим на кор-фермент) и во время репликации скользит вдоль ДНК. Скользящий β -зажим предупреждает диссоциацию ДНК-полимеразы III из комплекса с ДНК, резко увеличивая процессивность до 500 000 нуклеотидов и более (табл. 25-1).

В репликации ДНК участвует множество ферментов и белковых факторов

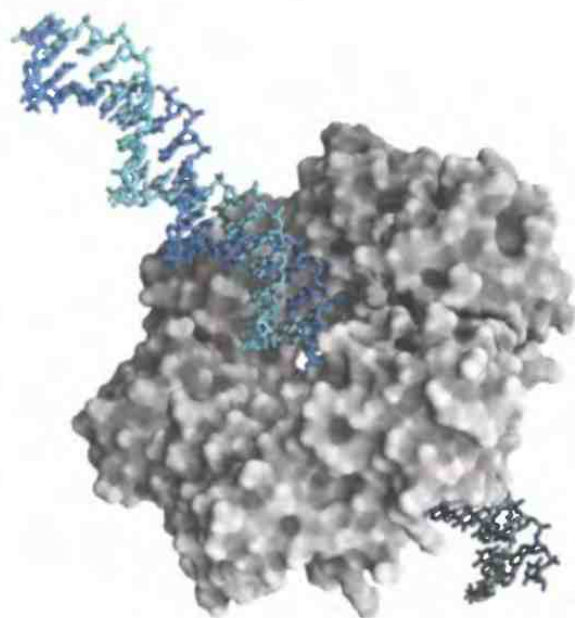
Для репликации *E. coli* нужна не только ДНК-полимераза, но также не менее 20 различных ферментов и белков, каждый из которых выполняет определенную задачу. Весь этот комплекс был назван **ДНК-репликативной системой**, или **реплисомой**. Сложность ферментативного аппарата репликации связана со структурой ДНК и с требованиями высокой точности синтеза. Основные классы ферментов репликации перечислены ниже в соответствии с теми функциями, которые они выполняют.

Чтобы обеспечить доступ к цепям ДНК, которые служат в качестве матрицы, две родительские цепи нужно разделить. Обычно этот процесс осуществляют хеликазы — ферменты, которые движутся вдоль ДНК и разделяют ее цепи, затрачивая при этом энергию АТФ. Разделение цепей создает топологическое напряжение в спиральной структуре ДНК (см. рис. 24-12), которое снимается **топоизомеразами**. Разделенные цепи стабилизируются **ДНК-связывающими белками**.



Вид снизу

Рис. 25-10. ДНК-полимераза III. *а* — строение бактериальной ДНК-полимеразы III. Два центральных домена (кор-ферменты), состоящие из субъединиц α , ϵ и θ , связаны с γ -комплексом (погрузчиком зажима), состоящим из пяти субъединиц $\tau_2\gamma\delta\delta'$. Субъединицы γ и τ кодируются одним и тем же геном. Субъединица γ представляет собой укороченную субъединицу τ : субъединица τ содержит домен, идентичный γ , и дополнительный сегмент, взаимодействующий с кор-ферментом. Две другие субъединицы χ и ψ (не показаны) ДНК-полимеразы III* также связаны с γ -комплексом. Два β -зажима присоединяются к двум кор-ферментам; каждый зажим — это димер β -субъединицы. Комплекс взаимодействует с DnaB-хеликазой через τ -субъединицу. *б* — две β -субъединицы полимеразы III *E. coli* образуют зажим в виде кольца, которое окружает ДНК. Зажим скользит по молекуле ДНК, увеличивая процессивность холофермента ДНК-полимеразы III до 500 000 нуклеотидов и более, не позволяя ДНК диссоциировать. *Вид снизу* демонстрирует две β -субъединицы, изображенные в виде лент голубого и серого цвета, окружающих СРК-модель молекулы ДНК. *Вид сбоку* демонстрирует контур поверхности β -субъединиц (серого цвета), которые окружают двойную спираль ДНК (голубой и синий цвет), изображенную в виде стрежневой модели (по PDB ID 2POL).



Вид сбоку

б

ми. Как уже было сказано, прежде чем ДНК-полимеразы смогут начать синтез ДНК, на матрице должны находиться праймеры — обычно это короткие сегменты РНК, синтезированные ферментами **праймазами**. Позднее РНК-праймеры удаляются и заменяются на ДНК; у *E. coli* это действие — одна из основных функций ДНК-по-

лимеразы I. После вырезания РНК-праймера и встраивания ДНК в последовательности ДНК сохраняется ник в форме разорванной фосфодиэфирной связи. Эти ники зашивают **ДНК-лигазы**. Все перечисленные процессы нуждаются в координации и регуляции, которые хорошо исследованы в системе *E. coli*.

Репликация хромосомы *E. coli* происходит поэтапно

В синтезе молекулы ДНК можно выделить три стадии: инициация, элонгация и терминация, которые различаются как по химической сути, так и по составу ферментов. В этой и двух последующих главах рассматриваются именно эти три общие стадии синтеза крупных информационных полимеров — ДНК, РНК и белков, а также специфические особенности каждого биосинтетического пути. Описываемые далее события базируются на информации, первоначально полученной в экспериментах *in vitro* на очищенных белках *E. coli*, хотя принципы репликации весьма консервативны во всех системах.

Инициация. Точка начала репликации *E. coli* (*oriC*) состоит из 245 п. н.; она содержит элементы последовательности, консервативные во многих бактериальных точках начала репликации. Стандартный набор консервативных последовательностей показан на **рис. 25-11**. Наибольший интерес представляют два типа последовательностей: пять повторов размером по 9 п. н. (R-сайты) — участки связывания ключевого инициаторного белка DnaA, а также A=T-богатый участок, называемый **ДНК-расплетающим элементом DUE** (от англ. *DNA unwinding element*). Кроме того, существуют три дополнительных участка связывания DnaA (I-сайты) и участки связывания белков IHF (от англ. *integration host factor*) и FIS (от англ. *factor for inversion stimulation*). Эти

два белка необходимы для некоторых реакций рекомбинации, описанных ниже в данной главе, а их названия отражают их функции. Еще один ДНК-связывающий белок HU (гистонотипный бактериальный белок, ранее называвшийся фактором U) также участвует в процессе, но не имеет специфического участка связывания.

В инициации репликации участвуют по меньшей мере 10 разных ферментов и белков (см. табл. 25-3). Они расплетают спираль ДНК в точке начала репликации и собирают препраймирующий комплекс для последующих реакций. Ключевым элементом в процессе инициации выступает белок DnaA — входит в белковое семейство AAA+ АТФаз (от англ. *ATPases associated with diverse cellular activities*). Многие AAA+ АТФазы, включая DnaA, образуют олигомерные структуры и сравнительно медленно гидролизуют АТФ. Гидролиз АТФ служит переключателем, опосредующим переходы одной формы белка в другую. В случае DnaA АТФ-связанная форма активна, а АДФ-связанная форма неактивна.

Восемь молекул белка DnaA, каждая из которых связана с АТФ, образуют спиральный комплекс, охватывающий R- и I-сайты в *oriC* (**рис. 25-12**). DnaA имеет более высокое сродство к R-сайтам, чем к I-сайтам, и этот белок связывается с R-сайтами одинаково хорошо как в АТФ-, так и в АДФ-форме. Напротив, I-сайты, в которых связывается только АТФ-связанный DnaA, позволяют различать активную и неактивную форму DnaA. Молекула ДНК плотно закручивается в правую сторону вокруг этого комплекса, образуя

Тандемное расположение
трех консенсусных
последовательностей
GATCTNTTNTTTT
из 13 нуклеотидов

Сайты связывания белка DnaA,
пять консенсусных
последовательностей
TT(A/T)TNCACC
из 9 нуклеотидов

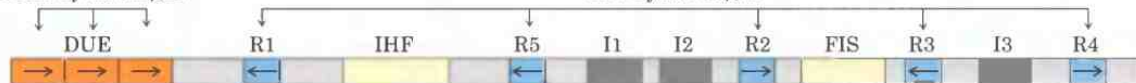


Рис. 25-11. Расположение последовательностей в точке начала репликации *E. coli* (*oriC*).

Показаны консенсусные последовательности (см. с. 156 в т. 1) ключевых повторов. N обозначает любой из четырех нуклеотидов. Горизонтальные стрелки показывают ориентацию нуклеотидных последовательностей (стрелки слева направо указывают на последовательность в верхней цепи, а справа налево — в нижней). Участки FIS и IHF — сайты связывания белков, описанных в тексте. С R-сайтами связан белок DnaA. Сайты I — дополнительные участки связывания DnaA (у них другие последовательности), DnaA взаимодействует с ними только в комплексе с АТФ.

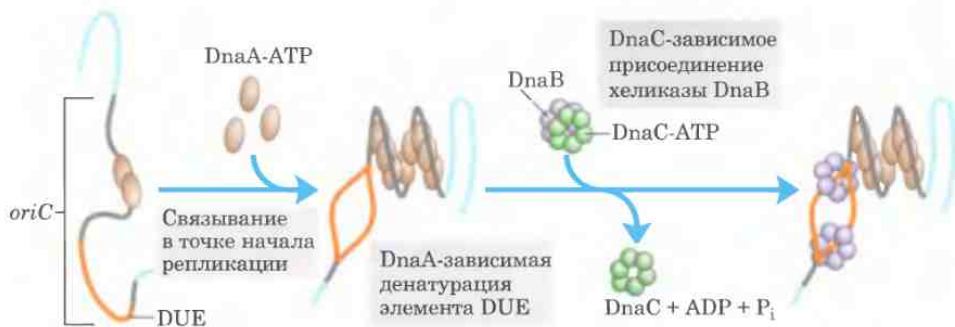


Рис. 25-12. Модель инициации репликации в точке начала репликации *E. coli* (*oriC*). Восемь связанных с АТФ молекул белка ДнаА присоединяются к точке начала репликации в R- и I-сайтах (см. рис. 25-11). ДНК закручивается вокруг этого комплекса с образованием правозакрученной спирали. Богатый остатками А=Т участок DUE денатурирует из-за напряжения, возникающего в цепи в результате связывания ДнаА. Образованию спирального комплекса с ДнаА способствуют белки HU, IHF и FIS (здесь не показаны, так как подробно их структура и роль еще не определены). Гексамеры белка ДнаВ связываются с каждой цепью ДНК с помощью белка ДнаС. Благодаря своей хеликазной активности белок ДнаВ раскручивает ДНК, подготавливая ее для посадки праймера и синтеза ДНК.

положительную суперспираль (см. гл. 24). Возникшее в соседних участках ДНК напряжение вызывает денатурацию А=Т-богатого участка DUE. Кроме того, образующийся в точке начала репликации комплекс также содержит несколько ДНК-связывающих белков — HU, IHF и FIS, которые облегчают изгиб ДНК.

Затем другая AAA+ АТРаза, ДнаС, загружает белок ДнаВ на разделенные цепи ДНК в денатурированном участке. Гексамер, состоящий из молекул ДнаС, каждая из которых связана с АТФ, образует прочный комплекс с гексамерной кольцевой ДнаВ-хеликазой. При взаимодействии ДнаС с ДнаВ кольцо ДнаВ раскрывается, чему также способствует дальнейшее взаимодействие между ДнаВ и ДнаА. Два кольцевых гексамера ДнаВ связываются с DUE — по одному на каждую нить ДНК. Связанная с ДнаС молекула АТФ гидролизует, что приводит к высвобождению ДнаС, а ДнаВ остается связанным с ДНК.

Присоединение хеликазы ДнаВ — ключевой момент в инициации репликации. Далее репликативная хеликаза ДнаВ перемещается вдоль одноцепочечной ДНК в направлении 5'→3', раскручивая ДНК по мере продвижения. Таким образом, связанные с двумя цепями ДНК молекулы хеликазы ДнаВ перемещаются в противоположных направлениях, создавая две репликативные вилки. Все другие белки репликативной вилки

также напрямую или опосредованно связаны с ДнаВ. Холофермент ДНК-полимеразы III связан через τ -субъединицы. Другие взаимодействия ДнаВ описаны ниже. В начале репликации, когда нити ДНК разделяются в области репликативной вилки, с ними связываются, стабилизируя их, многочисленные молекулы белка, связывающегося с одноцепочечной ДНК (*single-stranded DNA-binding protein*, SSB), а ДНК-гираза (ДНК-топоизомераза II) снимает топологическое напряжение, возникающее впереди вилки из-за раскручивания ДНК.

Инициация — единственная фаза репликации ДНК, про которую известно, что она регулируется, притом таким образом, что репликация происходит только один раз за клеточный цикл. Механизм регуляции пока еще точно не установлен, но в ходе генетических и биохимических исследований было выявлено несколько независимых элементов регуляции.

Как только с ДНК связывается ДНК-полимераза III, а также β -субъединицы (что свидетельствует о завершении фазы инициации), с β -субъединицами связывается белок Hda, который взаимодействует с ДнаА и стимулирует гидролиз связанного с ним АТФ. Белок Hda (название этого фермента означает «гомологичный ДнаА») — еще одна AAA+ АТРаза, родственная ДнаА. Гидролиз АТФ приводит к разборке ком-

Таблица 25-3 Белки, необходимые для инициации репликации в точке начала репликации *E. coli*

Белок	M_r	Число субъединиц	Функция
Белок DnaA	52 000	1	Распознает последовательности в точке начала репликации; раскрывает цепи ДНК в специальных сайтах точки начала репликации
Белок DnaB (хеликаза)	300 000	6*	Раскручивает ДНК
Белок DnaC	29 000	6*	Связывает DnaB в точке начала репликации
HU	19 000	2	Гистонотипный ДНК-связывающий белок; стимулирует инициацию
FIS	22 500	2*	ДНК-связывающий белок; стимулирует инициацию
INF	22 000	2	ДНК-связывающий белок; стимулирует инициацию
Праймаза (белок DnaG)	60 000	1	Синтезирует РНК-праймеры
Белок, связывающий одноцепочечную ДНК (SSB)	75 600	4*	Связывает одноцепочечную ДНК
ДНК-гираза (ДНК-топоизомераза II)	400 000	4	Ослабляет торсионное напряжение, вызываемое раскручиванием ДНК
Dam-метилаза	32 000	1	Метирует последовательность (5')GATC в <i>oriC</i>

* В данном случае субъединицы одинаковые.

плекса DnaA в точке начала репликации. Медленное высвобождение ADP и связывание новых молекул АТР замыкает цикл превращений между неактивной (со связанным ADP) и активной (со связанным АТР) формами белка, который длится от 20 до 40 мин.

На ход инициации репликации влияет метилирование ДНК и взаимодействия с бактериальной плазматической мембраной. ДНК в области *oriC* метилируется Dam-метилазой (от англ. **DNA adenine methylation**; табл. 25-3), которая вводит метильную группу по положению N⁶ в остатке аденина в палиндромной последовательности (5')GATC. Точка начала репликации *oriC* у *E. coli* содержит особенно много повторов GATC — их 11 в последовательности из 245 п. н., тогда как в среднем во всей хромосоме *E. coli* этот повтор встречается один раз на 256 п. н.

Непосредственно после репликации ДНК оказывается наполовину метилированной: в родительских цепях последовательности *oriC* метилированы, а во вновь синтезированных — нет. Эти наполовину метилированные последовательности *oriC* изолированы за счет взаимодействия с плазматической мембраной (механизм неизвестен) и связывания с белком SeqA. Через некоторое время последовательность *oriC* отделяется от плазматической мембраны, SeqA диссоциирует,

и Dam-метилаза полностью метилирует ДНК до того, как она вновь связывает DnaA в новом раунде репликации.

Элонгация. Фаза элонгации репликации включает две связанные между собой операции: синтез лидирующей цепи и синтез отстающей цепи. Для синтеза обеих цепей важно присутствие в репликационной вилке нескольких ферментов. Сначала исходная ДНК раскручивается ДНК-хеликазой, а возникающее топологическое напряжение снимается топоизомеразами. Затем белок SSB стабилизирует каждую отдельную цепь. С этого момента синтез лидирующей цепи и синтез отстающей цепи кардинально различаются.

Синтез лидирующей цепи происходит проще: он начинается с синтеза праймазой (белок DnaG) короткого (от 10 до 60 нуклеотидов) РНК-праймера в точке начала репликации. Для осуществления данной реакции DnaG взаимодействует с хеликазой DnaB, причем праймер синтезируется в направлении, которое противоположно направлению движения хеликазы DnaB. На самом деле хеликаза DnaB перемещается вдоль цепи, которая становится отстающей при синтезе ДНК. Однако первый праймер, синтезированный при первом взаимодействии DnaG–DnaB, служит для запуска синтеза лидирующей цепи ДНК в противополож-

ном направлении. Дезоксирибонуклеотиды добавляются к этому праймеру ДНК-полимеразой III, связанной с DnaB-хеликазой, расположенной на противоположной цепи ДНК. Синтез лидирующей цепи происходит непрерывно со скоростью, соответствующей скорости раскручивания ДНК в репликативной вилке.

Как уже было отмечено, отстающая цепь синтезируется в виде коротких фрагментов Оказаки (рис. 25-13, а). Сначала праймаза синтезирует РНК-праймер. Затем, как и в процессе синтеза лидирующей цепи, ДНК-полимераза III связывается с праймером и присоединяет дезоксирибонуклеотиды (рис. 25-13, б). На этом этапе синтез каждого

фрагмента Оказаки кажется простым, но на самом деле это весьма сложный процесс. Сложность заключается в *координации* синтезов лидирующей и отстающей цепей: обе цепи синтезируются *одним* асимметричным димером ДНК-полимеразы III, что достигается при образовании петли ДНК из отстающей цепи (рис. 25-14), сближающей две точки полимеризации.

Синтез фрагментов Оказаки на отстающей цепи происходит с участием удивительного ферментативного аппарата. DnaB-хеликаза и DnaG-праймаза образуют отдельный функциональный блок, **праймому**, в составе репликативного комплекса. ДНК-полимераза III использует один

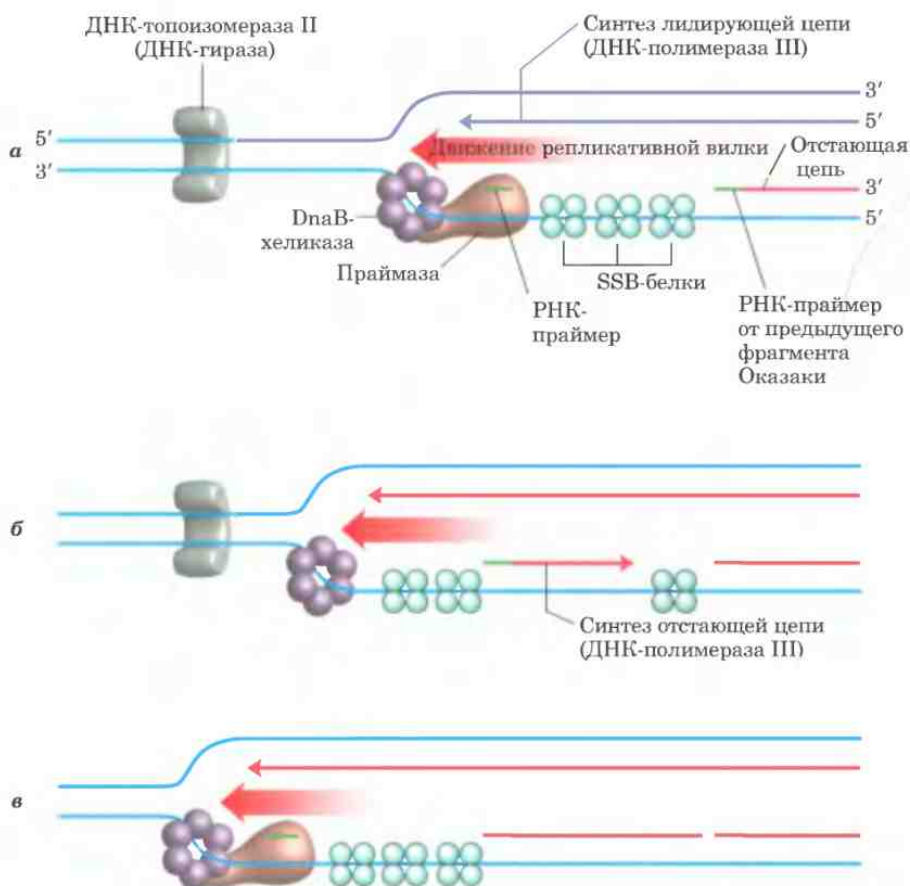


Рис. 25-13. Синтез фрагментов Оказаки. а — на определенном расстоянии праймаза синтезирует РНК-праймер для нового фрагмента Оказаки. Если рассматривать две параллельные матричные цепи, синтез отстающей цепи формально происходит в направлении, противоположном направлению движения вилки. б — каждый праймер удлиняется ДНК-полимеразой III. в — синтез ДНК продолжается до тех пор, пока полимераза не достигнет праймера предыдущего фрагмента Оказаки. Для возобновления процесса вблизи репликативной вилки синтезируется новый праймер.

набор кор-ферментов (коровая полимераза) для непрерывного синтеза лидирующей цепи, в то время как другой набор кор-ферментов осуществляет циклы синтеза фрагментов Оказаки на петле отстающей цепи. ДнаВ-хеликаза, находящаяся

перед ДНК-полимеразой III, раскручивает ДНК в репликативной вилке (рис. 25-14, а), продвигаясь вдоль матрицы отстающей цепи в направлении 5'→3'. ДНК-праймаза время от времени связывается с ДнаВ-хеликазой и синтезирует короткий

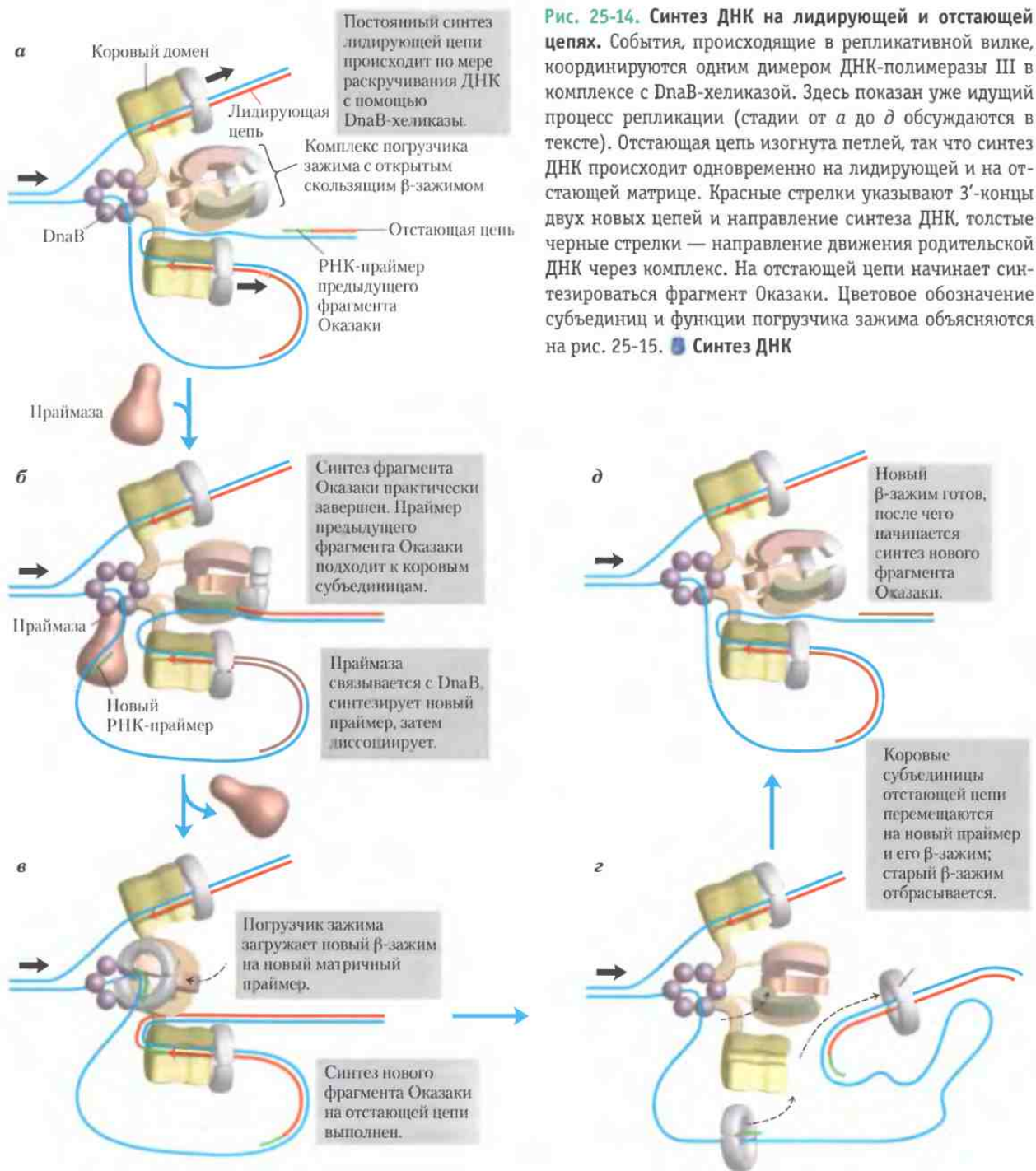


Таблица 25-4 Белки реплисомы *E. coli*

Белок	M_r	Число субъединиц	Функция
SSB	75 600	4	Связывание с одноцепочечной ДНК
Белок DnaB (хеликаза)	300 000	6	Раскручивание ДНК; компонент праймосомы
Праймаза (белок DnaG)	60 000	1	Синтез РНК-праймера; компонент праймосомы
ДНК-полимераза III	791 500	17	Элонгация новой цепи
ДНК-полимераза I	103 000	1	Заполнение брешей; вырезание праймеров
ДНК-лигаза	74 000	1	Лигирование
ДНК-гираза (ДНК-топоизомераза II)	400 000	4	Суперскручивание

Источник. По Kornberg, A. (1982) *Supplement to DNA replication*, Table S11-2, W. H. Freeman and Company, New York; с изм.

РНК-праймер (рис. 25-14, б). Затем погрузчик зажима ДНК-полимеразы III закрепляет на праймере новый скользящий β -зажим (рис. 25-14, в). Когда синтез фрагмента Оказаки заканчивается, репликация приостанавливается, кор-фермент ДНК-полимеразы III отсоединяется от одного зажима (а также от законченного фрагмента Оказаки) и связывается с новым зажимом (рис. 25-14, г, д). Это инициирует синтез нового фрагмента Оказаки. Как отмечалось ранее, весь комплекс, ответственный за координированный синтез ДНК в репликативной вилке, называют реплисомой. Белки, задействованные в репликативной вилке, перечислены в табл. 25-4.

Погрузчик зажима ДНК-полимеразы III, состоящий из частей двух τ -субъединиц, а также из γ , δ и δ' -субъединиц, функционирует, кроме

того, как AAA^+ АТРаза. Этот комплекс связывается с АТР и с новым скользящим β -зажимом. Связывание приводит к возникновению напряжения в димерном зажиме, в результате чего на границе одной из субъединиц открывается кольцо (рис. 25-15). Отстающая цепь с только что присоединенным праймером проскальзывает в кольцо через образующийся разрыв. Затем погрузчик зажима гидролизует АТР, высвобождая скользящий β -зажим и позволяя ему сомкнуться вокруг ДНК.

Реплисома осуществляет синтез ДНК быстро, присоединяя примерно по 1000 нуклеотидов в секунду к каждой цепи (лидирующей и отстающей). После завершения сборки одного фрагмента Оказаки его РНК-праймер удаляется и замещается последовательностью ДНК с помо-

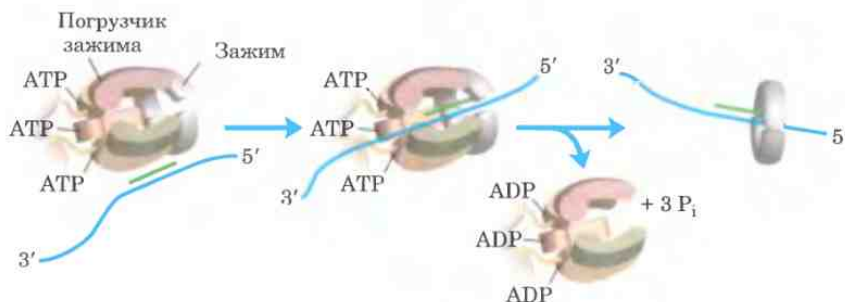


Рис. 25-15. Комплекс погрузчика зажима ДНК-полимеразы III. Комплекс образован пятью субъединицами: субъединица γ , δ и δ' , а также N-концевыми доменами обеих τ -субъединиц (см. рис. 25-10). Комплекс связывает три молекулы АТР и димерный β -зажим. Это связывание приводит к открыванию β -зажима на границе одной из двух субъединиц. Гидролиз связанного АТР позволяет β -зажиму вновь замкнуться вокруг ДНК.

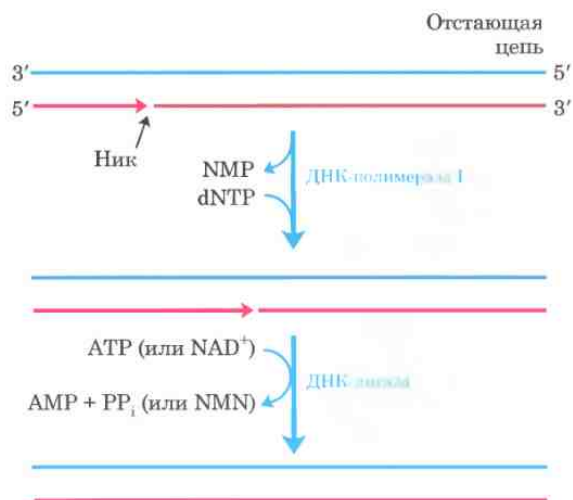
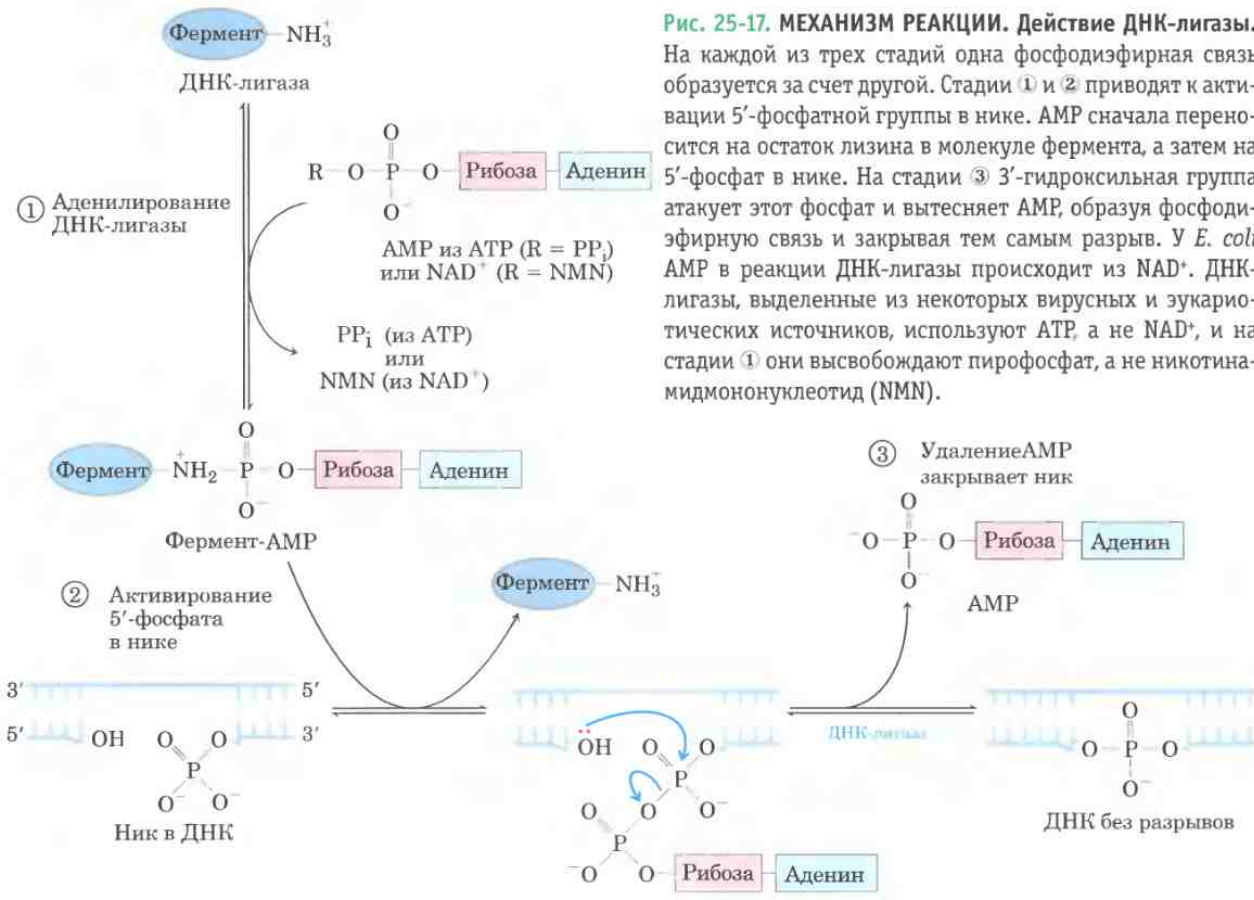


Рис. 25-16. Заключительные стадии синтеза фрагментов отстающей цепи. ДНК-полимераза I благодаря своей 5'→3'-экзонуклеазной активности удаляет РНК-праймеры из отстающей цепи и замещает их на ДНК. Оставшийся ник (разрыв) ликвидирует ДНК-лигаза. Роль АТФ и NAD^+ показана на рис. 25-17.



стью ДНК-полимеразы I, а оставшийся ник ликвидируется ДНК-лигазой (рис. 25-16).

ДНК-лигаза катализирует образование фосфодиэфирной связи между 3'-гидроксильной группой на конце одной цепи ДНК и 5'-фосфатом на конце другой цепи. Фосфат должен быть предварительно активирован путем аденилирования ДНК-лигазы, выделенные из вирусов и эукариот, используют для этой цели АТФ. ДНК-лигазы бактерий (рис. 25-17) отличаются тем, что в качестве источника АМР они используют NAD^+ — кофактор, который обычно участвует в реакциях с переносом гидрид-иона (см. рис. 13-24). ДНК-лигаза — еще один фермент метаболизма ДНК, который стал важным инструментом в экспериментах с рекомбинантными ДНК (см. рис. 9-1).

Терминация. Наконец, две репликативные вилки кольцевой хромосомы *E. coli* встречаются в точке терминации, содержащей множество копий последовательности из 20 п. н., называемой Тер (от лат. *terminus* — конец) (рис. 25-18). Последова-

тельности Ter расположены на хромосоме таким образом, что создают что-то вроде ловушки, в которую репликативная вилка может войти, но не может из нее выйти. Ter-последовательности служат участками связывания белка Tus (от англ. *terminus utilization substance*). Комплекс Tus–Ter может задержать репликативную вилку, движущуюся только в одном направлении. В каждом цикле репликации действует только один комплекс Tus–Ter — первый из тех, с которым столкнется первая вилка. Учитывая, что движущиеся в противоположных направлениях репликативные вилки обычно останавливаются при встрече, может показаться, что Ter-последовательности — необязательные элементы. Однако они могут предотвратить избыточную репликацию на одной из репликативных вилок, в случае если другая задерживается или останавливается при столкновении с повреждением ДНК или каким-либо другим препятствием.

Таким образом, когда одна из репликативных вилок встречает функциональный комплекс Tus–Ter, она останавливается; а другая вилка останавливается, когда встречается с первой (задержанной) вилкой. Затем реплицируются последние несколько сотен пар оснований ДНК между этими крупными белковыми комплексами (по неизвестному механизму), достраивая две топологически сцепленные (катенированные) кольцевые хромосомы (рис. 25-19). Кольцевые ДНК, связанные таким образом, называются



Рис. 25-18. Терминация репликации хромосомы *E. coli*. Последовательности Ter (от *TerA* до *TerF*) располагаются на хромосоме в виде двух кластеров с противоположной ориентацией.

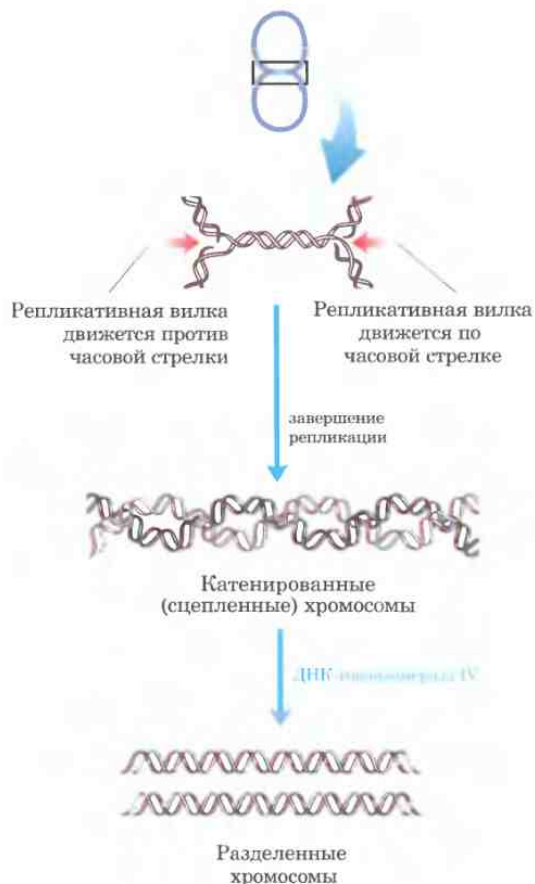


Рис. 25-19. Роль топоизомераз в терминации репликации. В результате репликации ДНК на двух противоположно направленных репликативных вилках образуются полноценные хромосомы, соединенные как катенаны (топологически соединенные кольца). Кольца не связаны ковалентной связью, но поскольку они переплетены и каждое из них замкнуто ковалентно, их нельзя разделить без помощи топоизомераз. У *E. coli* основную роль в разделении катенированных хромосом играет топоизомераза типа II (ДНК-топоизомераза IV), которая вносит кратковременный разрыв в обе цепи ДНК в одной хромосоме, позволяя другой хромосоме пройти сквозь разрыв.

катенанами. Функцию разделения катенированных колец у *E. coli* выполняет топоизомераза IV (топоизомераза II типа). Затем при клеточном делении разделенные хромосомы расходятся по дочерним клеткам. Заключительная фаза репликации других кольцевых хромосом, включая многие из ДНК-содержащих вирусов, инфицирующих эукариотические клетки, происходит по аналогичной схеме.

Репликация в эукариотических клетках происходит по похожей схеме, но сложнее

Молекулы ДНК в эукариотических клетках значительно крупнее, чем в бактериях, и образуют сложные нуклеопротеиновые структуры (хроматин; разд. 24.3). Основная схема репликации ДНК у эукариот такая же, как у бактерий, и многие белковые комплексы похожи по функциям и структуре. Однако репликация у эукариот регулируется и координируется в соответствии с клеточным циклом, что усложняет процесс.

Участки начала репликации достаточно хорошо охарактеризованы у некоторых низших эукариот, но значительно хуже у высших эукариот. У позвоночных для инициации репликации могут использоваться разные А=Т-богатые последовательности, причем участки начала репликации могут меняться при каждом клеточном делении. Репликация дрожжей *Saccharomyces cerevisiae* начинается в определенной области, называемой автономно реплицирующейся последовательностью (АРП) или **репликатором**. Дрожжевые репликаторы имеют длину примерно 150 п. н. и содержат несколько важных консервативных последовательностей. В 16 хромосомах гаплоидного генома дрожжей рассредоточено около 400 репликаторов.

Механизмы регуляции обеспечивают однократную репликацию всей клеточной ДНК в каждом клеточном цикле. Важную роль в этой регуляции играют белки, называемые циклинами, и циклин-зависимые киназы (CDK), с которыми они образуют комплексы (с. 660 в т. 1). Циклины быстро разрушаются в результате убиквитин-зависимого протеолиза в конце М-фазы (фазы митоза), а отсутствие циклинов способствует организации **пререпликативных комплексов (pre-RC)** в участках инициации репликации. В быстро растущих клетках комплекс pre-RC образуется в конце М-фазы. В медленно растущих клетках этот комплекс не образуется до конца фазы G1. Формирование комплексов pre-RC позволяет клетке начать репликацию (этот этап иногда называют **лицензированием**).

Как и у бактерий, ключевой момент в инициации репликации у всех эукариот — присоединение репликативной хеликазы, гетерогексамерного белкового комплекса **МСМ** (от англ. *minichromosome maintenance*; субъединицы от

МСМ2 до МСМ7). Кольцевая хеликаза, состоящая из субъединиц МСМ2–7, функционирует подобно бактериальной хеликазе DnaB и связывается с ДНК при помощи другого комплекса из шести белков, называемого **комплексом распознавания точки инициации репликации (ORC)**; от англ. *origin recognition complex*; рис. 25-20). Комплекс ORC состоит из пяти AAA+ АТФазных доменов и по своим функциям напоминает бактериальный комплекс DnaA. Кроме того, для присоединения комплекса МСМ2–7 необходимы два белка — CDC6 (от англ. *cell division cycle*) и CDT1 (от англ. *CDC10-dependent transcript 1*), причем дрожжевой белок CDC6 представляет собой еще одну AAA+ АТФазу.

Для осуществления репликации в S-фазе происходит синтез и активация комплексов циклин–CDK (таких, как комплекс циклин Е–CDK2; см. рис. 12-45 в т. 1) и CDC7–DBF4. Оба типа комплексов помогают активизировать репликацию путем связывания и фосфорилирования некоторых белков пререпликативных комплексов. Другие циклины и CDK ингибируют образование дополнительных pre-RC комплексов после начала репликации. Например, CDK2 связывается с циклином А, когда уровень циклина Е снижается в ходе S-фазы, что ингибирует активность CDK2 и предотвращает образование дополнительных pre-RC-комплексов.

Скорость репликативной вилки у эукариот (около 50 нуклеотидов в секунду) примерно в 20 раз меньше, чем в *E. coli*. Если бы репликация хромосомы человека начиналась в единственной точке инициации репликации, при такой скорости процесса репликация средней хромосомы продолжалась бы более 500 ч. На самом деле репликация хромосом человека происходит в двух направлениях и начинается во многих точках, удаленных друг от друга на расстояние от 30 до 300 т. п. н. Хромосомы эукариот почти всегда намного длиннее, чем хромосомы бактерий, поэтому наличие многих точек инициации репликации, вероятно, общее свойство клеток эукариот.

Как и у бактерий, у эукариот есть несколько типов ДНК-полимераз. Некоторые из них, возможно, выполняют особые функции, например репликацию митохондриальной ДНК. В репликации ядерных хромосом участвует ДНК-полимераза α в комплексе с ДНК-полимеразой δ . Субъединичная **ДНК-полимераза α** имеет похо-

жую структуру и свойства во всех эукариотических клетках. Одна из ее субъединиц выполняет функцию праймазы, а самая крупная субъединица ($M_r \approx 180\,000$) обладает полимеразной активностью. Однако данная полимеразы не имеет

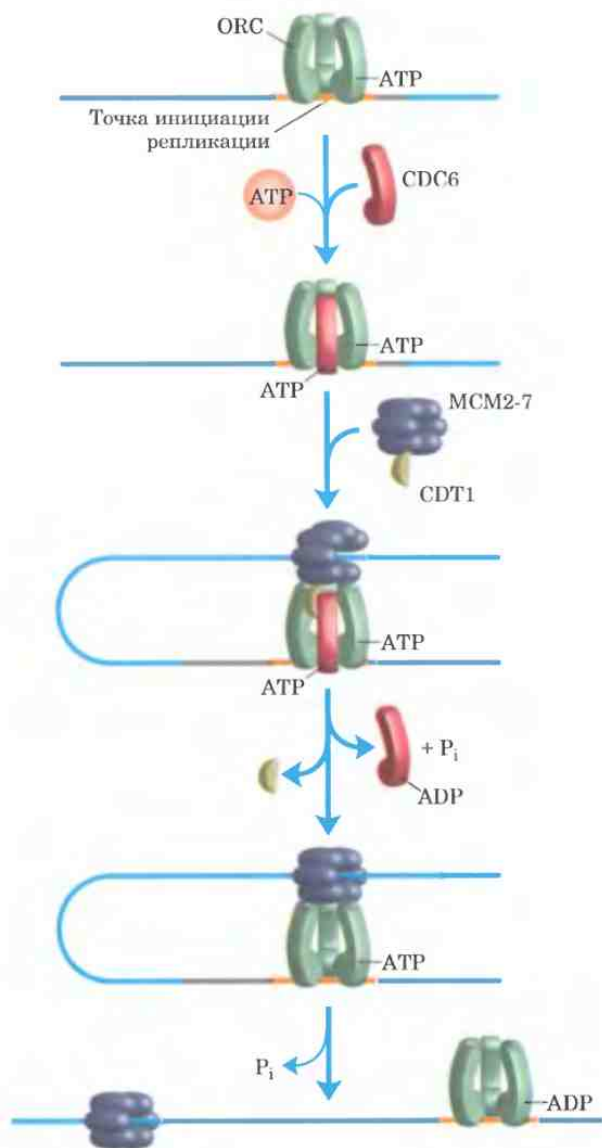


Рис. 25-20. Сборка пререпликативного комплекса в точке начала репликации у эукариот. В участке инициации репликации связываются белки ORC, CDC6 и CDT1. Эти белки, многие из которых являются AAA+ АТФазы, способствуют присоединению репликационной геликазы MCM2-7 в реакции, аналогичной реакции присоединения бактериальной геликазы DnaB с помощью белка DnaC. В результате связывания геликазного комплекса MCM с ДНК образуется пререпликативный комплекс pre-RC, и именно эта стадия оказывается ключевой для инициации репликации.

корректирующей 3'→5'-экзонуклеазной активности и не может обеспечить высокой точности репликации. Предполагается, что ДНК-полимераза α нужна только для синтеза коротких праймеров (либо РНК, либо ДНК) для фрагментов Оказаки на отстающей цепи. Удлинение этих праймеров осуществляет мультисубъединичная **ДНК-полимераза δ** . Этот фермент связывается с белком, называемым ядерным антигеном пролиферирующих клеток (PCNA — от англ. *proliferating cell nuclear antigen*; $M_r = 29\,000$), и стимулируется им; этот белок в большом количестве содержится в ядрах делящихся клеток. Трехмерная структура PCNA удивительным образом напоминает структуру β -субъединицы ДНК-полимеразы III *E. coli* (рис. 25-10, б), хотя первичные последовательности этих белков не имеют выраженной гомологии. Функционально PCNA представляет собой аналог β -субъединиц; он формирует кольцевой зажим, который существенно увеличивает процессивность полимеразы. ДНК-полимераза δ обладает корректирующей 3'→5'-экзонуклеазной активностью и, предположительно, обеспечивает синтез как лидирующей, так и отстающей цепи в комплексе, напоминающем димерную бактериальную ДНК-полимеразу III.

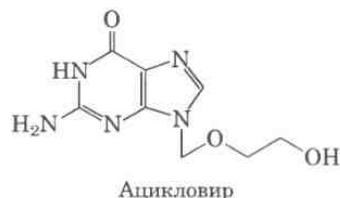
Еще одна полимеразы, **ДНК-полимераза ϵ** , в некоторых ситуациях заменяет ДНК-полимеразу δ , например при репарации ДНК. ДНК-полимераза ϵ также может действовать в репликативной вилке, возможно, аналогично бактериальной ДНК-полимеразе I, удаляя праймеры фрагментов Оказаки на отстающей цепи.

В репликации ДНК у эукариот задействованы еще два белковых комплекса. Белок RPA (от англ. *replication protein A*) связывает одноцепочечную ДНК, и его функция аналогична функции белка SSB в клетках *E. coli*. Белок RFC (от англ. *replication factor C*) представляет собой погрузчик зажима для PCNA, который облегчает сборку активных репликационных комплексов. Аминокислотные последовательности субъединиц комплекса RFC имеют значительное сходство с последовательностями субъединиц бактериального γ -комплекса.

Для терминации репликации линейных эукариотических хромосом на концах каждой хромосомы синтезируются специальные структуры, называемые **теломерами** (см. гл. 26).

Вирусные ДНК-полимеразы являются мишенями для противовирусной терапии

Многие ДНК-содержащие вирусы кодируют собственные ДНК-полимеразы, и некоторые из них становятся мишенями для лекарственных средств. Например, ДНК-полимераза вируса простого герпеса ингибируется ацикловиром, разработанным Гертрудой Элайон (см. с. 558 в т. 2). Ацикловир состоит из гуанина, к которому присоединено неполное кольцо рибозы.



Ацикловир фосфорилируется вирусной тимидинкиназой. Сродство ацикловира к вирусному ферменту в 200 раз выше сродства к клеточной тимидинкиназе. В результате фосфорилирование происходит преимущественно в клетках, инфицированных вирусом. Клеточные киназы превращают образовавшийся ацикло-GMP в ацикло-GTP, который одновременно является и ингибитором, и субстратом ДНК-полимераз. Ацикло-GTP сильнее ингибирует ДНК-полимеразу вируса герпеса, чем клеточные ДНК-полимеразы. Поскольку ацикло-GTP не имеет 3'-гидроксильной группы, его включение в цепь ДНК воспринимается как сигнал терминации. Таким образом, репликация вируса ингибируется на нескольких стадиях. ■

Краткое содержание раздела 25.1 РЕПЛИКАЦИЯ ДНК

- Репликация ДНК происходит с очень высокой точностью и в определенной фазе клеточного цикла. Репликация полуконсервативна, каждая цепь выступает матрицей для новой дочерней цепи. Репликация протекает в три стадии: инициация, элонгация и терминация. В бактериях реакция начинается в точке инициации репликации и обычно происходит в двух направлениях.
- ДНК синтезируется ДНК-полимеразами в направлении 5'→3'. В репликативной вилке лидирующая цепь синтезируется непрерывно

но по ходу движения репликативной вилки; отстающая цепь синтезируется прерывисто в виде фрагментов Оказаки, которые затем сшиваются.

- Точность репликации ДНК достигается (1) путем выбора оснований полимеразой (2) с помощью корректирующей 3'→5'-экзонуклеазной активности, которой обладает большинство ДНК-полимераз, и (3) с помощью специфических систем репарации, исправляющими ошибки, оставшиеся после репликации.
- Большинство клеток имеет несколько ДНК-полимераз. У *E. coli* основной фермент репликации — ДНК-полимераза III. ДНК-полимераза I выполняет особые функции в ходе репликации, рекомбинации и репарации.
- На стадиях инициации, элонгации и терминации репликации ДНК работает множество ферментов и белковых факторов, многие из них принадлежат к семейству AAA+ АТФаз.
- Белки бактерий, участвующие в репликации, организованы в крупные комплексы, внутри которых матрица ДНК протягивается через две реплисомы, связанные с плазматической мембраной.

25.2. Репарация ДНК

Большинство клеток содержит только одинарный или двойной набор геномной ДНК. Поврежденные белки и молекулы РНК могут быстро заменяться новыми благодаря информации, закодированной в ДНК, но сами молекулы ДНК заменяться не могут. Поддержание целостности информации в ДНК — важнейшая задача клетки, осуществляемая с помощью сложного набора систем репарации ДНК. ДНК может разрушиться в результате разных процессов; некоторые из них спонтанны, другие катализируются факторами внешней среды (см. гл. 8 в т. 1). Даже сам процесс репликации может иногда исказить содержащуюся в ДНК информацию, если в результате ошибки образуются неправильные пары оснований (например, пара G–T).

Химия повреждений ДНК разнообразна и сложна. Клеточный ответ на конкретное повреждение связан с активностью широкого круга ферментных систем, катализирующих одни из наиболее интересных химических трансформаций в метаболизме ДНК. Сначала мы рассмотрим последствия изменений в последовательности ДНК, а затем специфические системы репарации.

Онкологические заболевания связаны с мутациями

Лучший способ проиллюстрировать значение репарации ДНК — рассмотреть последствия *неисправленных* повреждений. Наиболее опасны такие изменения ДНК, которые в результате репликации и передачи новым поколениям клеток становятся постоянными. Стабильное изменение нуклеотидной последовательности ДНК называется **мутацией**. Мутации могут выражаться в замене одной пары оснований на другую (однонуклеотидные замены) или же происходит вставка и выпадение одной или нескольких пар оснований (инсерции и делеции). Если мутация затрагивает несущественный участок ДНК или не имеет принципиального значения для работы гена, ее называют **молчащей мутацией**. Изредка мутации обеспечивают своему хозяину биологическое преимущество. Однако в большинстве случаев проявляющиеся мутации являются нейтральными или вредоносными.

У млекопитающих наблюдается четкая корреляция между накоплением мутаций и раком. В ходе простого теста, разработанного Брюсом Эймсом, можно выявить способность химического соединения вызывать определенные легко выявляемые мутации в специальных бактериальных штаммах (рис. 25-21). Согласно этому тесту, совсем немногие вещества, которые мы используем повседневно, являются мутагенами. Однако более 90% соединений, в экспериментальных условиях оказывающих канцерогенное действие на животных, в тесте Эймса проявляют мутагенную активность. Учитывая четкую корреляцию между мутагенезом и канцерогенезом, тест Эймса для бактериальных мутагенов широко применяется в качестве быстрого и дешевого метода выявления канцерогенов человека.

В геноме типичной клетки млекопитающего за 24 ч аккумулируется много тысяч повреждений. Однако в результате репарации ДНК менее

одного повреждения из 1000 становится мутацией. Молекула ДНК относительно стабильна, но при отсутствии систем репарации кумулятивный эффект многих нечастых, но разрушительных реакций может привести к гибели организма. ■

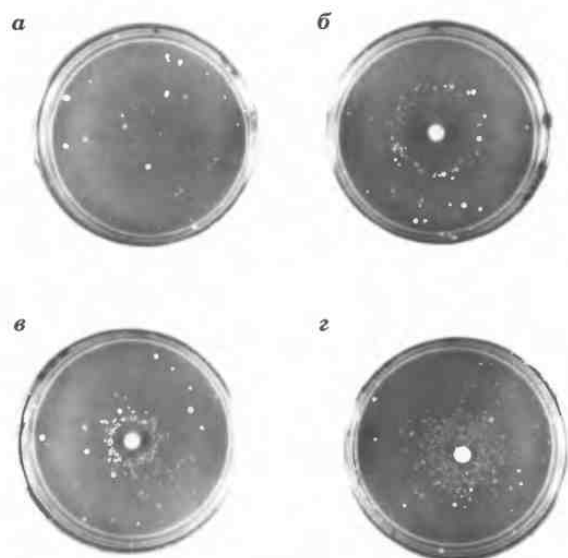


Рис. 25-21. Тест Эймса для выявления канцерогенов, основанный на мутагенности. Штамм *Salmonella typhimurium*, несущий мутацию, инактивирующую фермент метаболического пути биосинтеза гистидина, высевает на среду без гистидина. Растут только единичные клетки. **а** — несколько мелких колоний *S. typhimurium*, которые, тем не менее, вырастают на не содержащей гистидин среде, несут спонтанные обратные мутации, восстанавливающие биосинтез гистидина. Три чашки **б**, **в** и **г** с такой средой засевают равным числом клеток. Затем в центр каждой чашки помещают диски фильтровальной бумаги с разной концентрацией мутагена. Мутаген значительно увеличивает вероятность возникновения обратной мутации и, соответственно, число выросших клеток в колонии. Чистая зона вокруг фильтровальной бумаги показывает, что концентрация мутагена здесь настолько высокая, что оказывается летальной для клеток. По мере того как мутаген диффундирует, удаляясь от диска фильтровальной бумаги, его концентрация понижается до сублетальных концентраций, которые индуцируют обратные мутации. Мутагены можно сравнивать на основании их влияния на частоту возникновения мутаций. Поскольку после проникновения в клетку многие соединения претерпевают разнообразные химические превращения, соединения иногда тестируют на мутагенность после их предварительной инкубации с экстрактом печени. Мутагенность некоторых веществ проявляется только после такой обработки.

Все клетки имеют несколько систем репарации ДНК

Количество и разнообразие систем репарации отражает важность репарации ДНК для выживания клетки, а также многообразие способов повреждения ДНК (табл. 25-5). Некоторые распространенные типы повреждений, например пиримидиновые димеры (см. рис. 8-31), могут устраняться с помощью нескольких систем репарации. Многие процессы репарации ДНК очень неэффективны энергетически в отличие от большинства метаболических путей, в которых обычно каждая молекула АТФ на счету и используется оптимальным образом. Но когда на карту поставлена целостность генетической информации, энергетические затраты не имеют значения.

Репарация ДНК возможна в значительной степени благодаря тому, что молекула ДНК состоит из двух комплементарных цепей. Повреждение ДНК в одной цепи может быть удалено и аккуратно исправлено благодаря использованию неповрежденной комплементарной цепи в качестве матрицы. Далее мы рассмотрим основные типы систем репарации, начиная с репарации редких неправильно спаренных нуклеотидов, остающихся после репликации.

Репарация ошибочно спаренных оснований.

Коррекция редких ошибочно спаренных оснований, остающихся после репликации в *E. coli*, увеличивает общую точность репликации еще на 2–3 порядка. Неправильно спаренные основания почти всегда корректируются в соответствии с информацией в старой (матричной) цепи, поэтому система репарации должна каким-то образом различать исходную и заново синтезированную цепи. Для этого клетка метит матричную ДНК метильными группами. Система репарации ошибочно спаренных оснований *E. coli* включает по меньшей мере 12 белковых компонентов (табл. 25-5), которые либо дискриминируют цепи, либо участвуют в самом процессе репарации.

Механизм дискриминации цепей не установлен для большинства бактерий и эукариот, но хорошо изучен у *E. coli* и некоторых родственных бактерий. У этих прокариот дискриминация цепей основана на действии Dam-метилазы,

Таблица 25-5 Типы систем репарации ДНК у *E. coli*

Ферменты/белки	Тип нарушения
Репарация ошибочного спаривания оснований	
Dam-метилаза	Ошибочное спаривание оснований
Белки MutH, MutL, MutS	
ДНК-хеликаза II	
SSB	
ДНК-полимераза III	
Эксонуклеаза I	
Эксонуклеаза VII	
RecJ-нуклеаза	
Эксонуклеаза X	
ДНК-лигаза	
Эксцизионная репарация оснований	
ДНК-гликозилазы	Неправильные основания (урацил, гипоксантин, ксантин); алкилированные основания; пиримидиновые димеры у некоторых других организмов)
AP-эндонуклеазы	
ДНК-полимераза I	
ДНК-лигаза	
Эксцизионная репарация нуклеотидов	
ABC-эксцизионная нуклеаза	Повреждения ДНК, вызывающие крупные системные изменения (например, пиримидиновые димеры)
ДНК-полимераза I	
ДНК-лигаза	
Прямая репарация	
ДНК-фототлиазы	Пиримидиновые димеры
O ⁶ -Метилгуанин-ДНК-метилтрансфераза	O ⁶ -Метилгуанин
Белок AlkB	1-Метилгуанин, 3-метилцитозин

которая, как вы помните, метилирует ДНК в положении N⁶ остатка аденина в составе последовательностей (5')GATC. Сразу после прохождения репликативной вилки наступает короткий период (несколько секунд или минут), когда матричная цепь метилируется, а вновь синтезированная цепь нет (рис. 25-22). Временно неметилированные последовательности GATC во вновь синтезированной цепи позволяют отличить новую цепь от матричной. Ошибочно встроенные основания вблизи наполовину метилированной последовательности GATC устраняются исходя

из информации, содержащейся в метилированной родительской (матричной) цепи. Исследования *in vitro* показали, что, если последовательности GATC метилированы в обеих цепях, исправляется небольшое число ошибок; если ни одна из цепей не метилирована, репарация происходит, но ни одна из цепей не имеет преимуществ. Клеточные системы репарации, основанные на метилировании, эффективно устраняют однонуклеотидные замены на расстоянии до 1000 п. н. от наполовину метилированной последовательности GATC.

Как такие относительно удаленные последовательности GATC направляют коррекцию ошибочно спаренных оснований? Механизм показан на **рис. 25-23**. Белок MutL образует комплекс с белком MutS, и этот комплекс связывается со всеми аномальными парами оснований (кроме С–С). Белок MutH связывается с MutL и последовательностями GATC, с которыми встретился комплекс MutL–MutS. ДНК с обеих сторон от аномальной пары протягивается через комплекс MutL–MutS, создавая петлю. Одновременное продвижение обоих концов петли через комплекс равнозначно движению комплекса вдоль ДНК одновременно в двух направлениях. Белок MutH обладает сайт-специфической эндонуклеазной активностью, которая не проявляется до тех пор, пока комплекс не встречает наполовину метилированную последовательность GATC. В этом месте MutH катализирует расщепление неметилированной цепи на 5'-конце остатка G в составе последовательности GATC, что помечает цепь для последующей репарации. Дальнейшие стадии метаболического пути зависят от того, где именно располагается ошибочно спаренное основание относительно места расщепления (**рис. 25-24**).

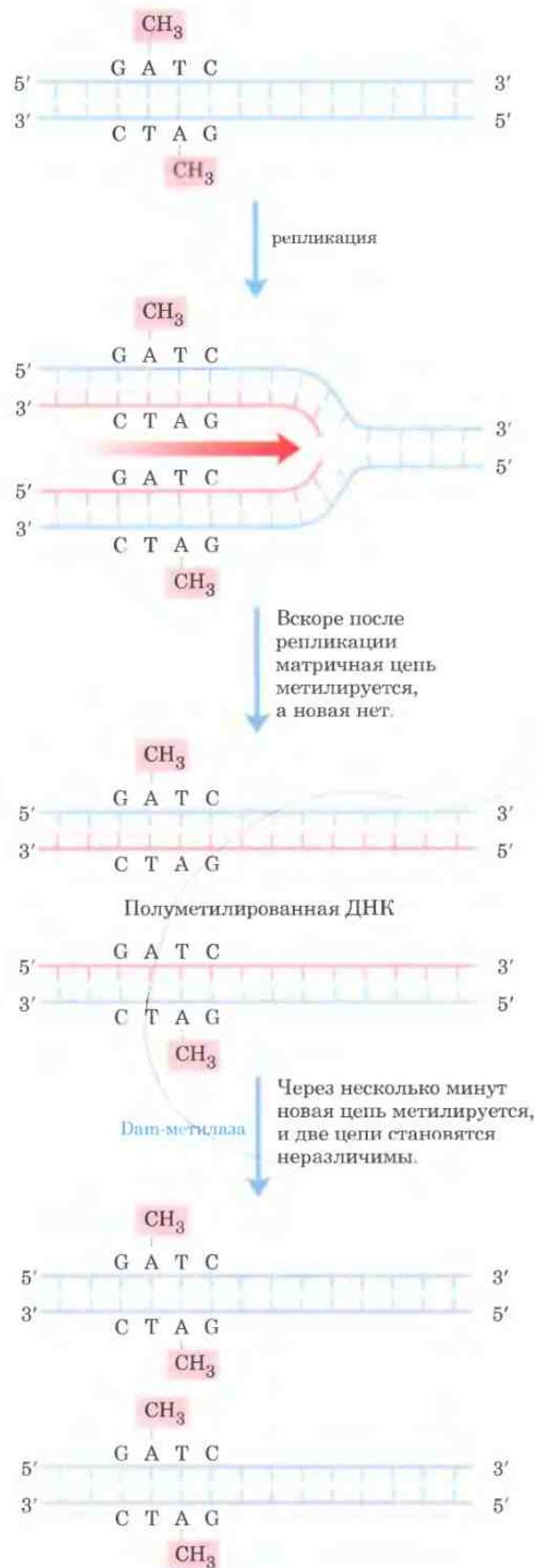
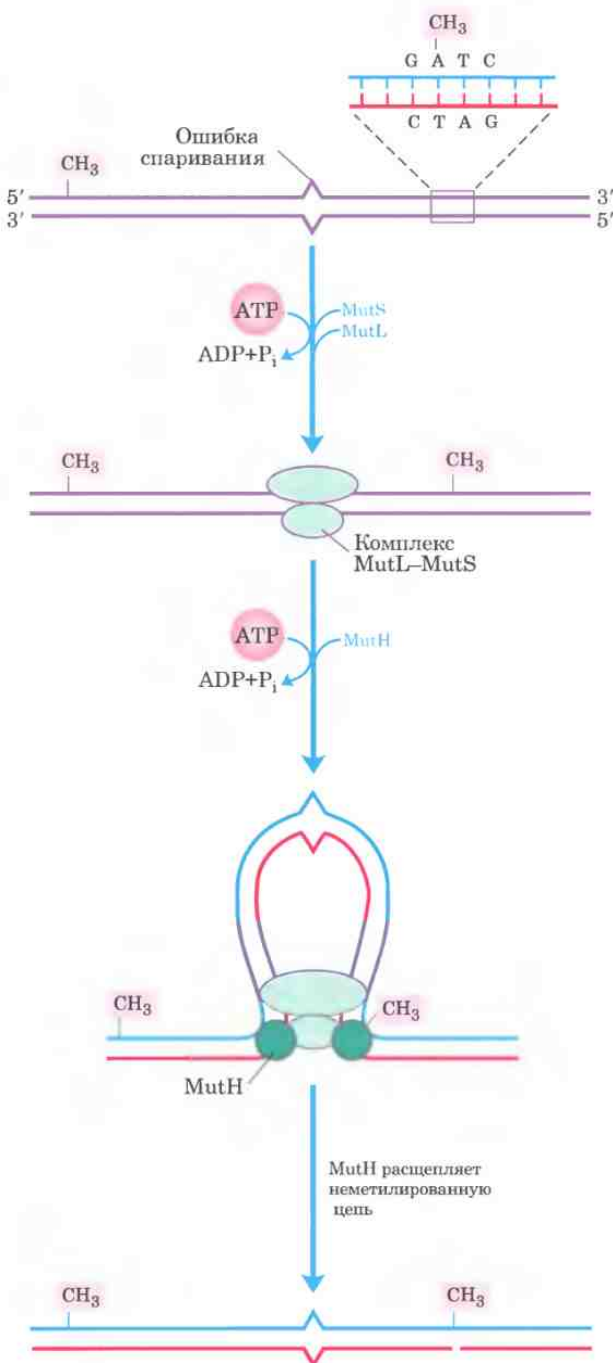


Рис. 25-22. Метилирование и репарация ошибочно спаренных оснований. Метилирование цепей ДНК у *E. coli* может служить для дискриминации родительских (матричных) цепей и вновь синтезированных цепей, что имеет решающее значение для репарации однонуклеотидных замен; см. рис. 25-23. Метилирование происходит по положению N⁶ остатков аденина в последовательностях 5'(GATC). Эта последовательность представляет собой палиндром (см. рис. 8-18 в т. 1), расположенный на двух цепях в противоположных ориентациях.

Если ошибочно спаренное основание находится со стороны 5'-конца от места расщепления (рис. 25-24, *справа*), неметилированная цепь раскручивается и разрушается в направлении 3'→5' от места расщепления, захватывая ошибочно спаренное основание, и этот участок замещается новой ДНК. Данный процесс требует совместного



действия ДНК-хеликазы II, SSB, экзонуклеазы I или экзонуклеазы X (обе разрушают цепи ДНК в направлении 3'→5'), ДНК-полимеразы III и ДНК-лигазы. Метаболический путь репарации ошибочно спаренных оснований, находящихся со стороны 3'-конца от точки расщепления, отличается лишь тем, что в нем участвует экзонуклеаза VII (которая расщепляет одноцепочечную ДНК в направлении 5'→3' или 3'→5') или RecJ-нуклеаза (которая расщепляет одноцепочечную ДНК в направлении 5'→3').

При оценке энергетической стоимости репарации однонуклеотидных замен у *E. coli* выясняется, что это очень затратный процесс. Аномальная пара оснований может находиться на расстоянии 1000 п. н. и более от GATC. Расщепление и восстановление сегмента такой длины требует огромного количества активированных предшественников дезоксинуклеотидов для репарации *одной* нуклеотидной замены. Это еще раз подчеркивает значение целостности генома для клетки.

Все эукариотические клетки содержат несколько белков, структурно и функционально аналогичных бактериальным белкам MutS и MutL (но не MutH). У человека изменения в генах, кодирующих белки этого типа, вызывают некоторые наиболее распространенные наследуемые синдромы, связанные с предрасположенностью к онкологическим заболеваниям (доп. 25-1), что еще раз демонстрирует значение систем репарации для организма. У большинства эукариот, от дрожжей до человека,

Рис. 25-23. Модель ранних стадий репарации, основанной на метилировании ДНК. Участвующие в данном процессе белки *E. coli* (см. табл. 25-5) были выделены и очищены. Узнавание последовательности 5'(GATC) и распознавание ошибочно спаренного основания — специфические функции белков MutL и MutS соответственно. Белок MutH образует комплекс с MutS в точке аномально спаривания. ДНК проходит через этот комплекс таким образом, что комплекс движется одновременно в двух направлениях вдоль ДНК до тех пор, пока не придет в соприкосновение с белком MutH, связанным с полуметилированной последовательностью GATC. Белок MutH расщепляет неметилированную цепь по остатку гуанина в этой последовательности со стороны 5'-конца. Затем комплекс, включающий ДНК-хелиразу II и одну из экзонуклеаз, расщепляет неметилированную цепь от этой точки до ошибочно спаренного основания (см. рис. 25-24).

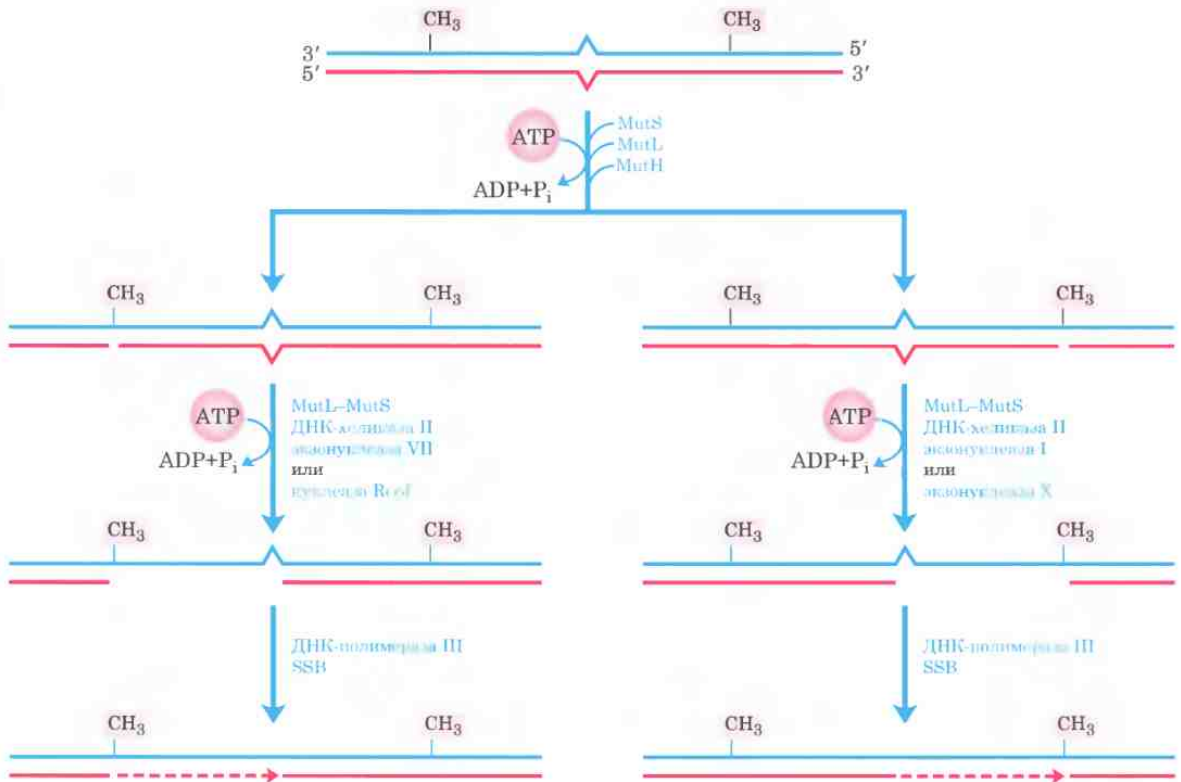


Рис. 25-24. Завершение репарации, основанной на метилировании ДНК. Действуя совместно, ДНК-хеликаза II, SSB и одна из четырех экзонуклеаз удаляют участок новой цепи между местом расщепления белком MutH и точкой, расположенной сразу за ошибочно спаренным основанием. Выбор экзонуклеазы зависит от расположения места расщепления относительно аномальной пары оснований. На схеме показаны альтернативные варианты. Образующуюся брешь заполняет ДНК-полимераза III (пунктирная линия), а ник ликвидирует ДНК-лигаза (не показано).

основные гомологи MutS — белки MSH2 (от *MutS homolog 2*), MSH3 и MSH6. Гетеродимеры MSH2 и MSH6 обычно связываются с одиночными аномальными парами оснований, но хуже связываются с чуть более длинными неправильно спаренными петлями. У многих организмов более длинные участки аномального спаривания (от 2 до 6 п. н.) связываются с гетеродимерами MSH2/MSH3 или с гетеродимерами двух типов в tandem. Гомологи MutL, особенно гетеродимер MLH1 и PMS1 (от *postmeiotic segregation*), соединяются с комплексами MSH и стабилизируют их. Детальные исследования процесса репарации ошибочно спаренных оснований у эукариот активно продолжаются. В частности, пока неизвестен механизм, с помощью которого идентифицируются вновь синтезированные

новые цепи ДНК, хотя было установлено, что последовательности GATC в этом участии не принимают.

Эксцизионная репарация оснований. Каждая клетка содержит класс ферментов, называемых **ДНК-гликозилазами**; они распознают наиболее распространенные повреждения ДНК (например, продукты дезаминирования цитозина и аденина; см. рис. 8-30. а) и удаляют поврежденные основания посредством расщепления N-гликозидной связи. Такое вырезание основания приводит к возникновению апуринового или апиридинового сайта в ДНК, который называют **AP-сайтом** или **сайтом, лишенным основания**. Обычно каждая ДНК-гликозилаза специфична к одному типу нарушений.

Так, урацил-ДНК-гликозилаза, обнаруженная в большинстве клеток, специфически удаляет из ДНК урацил, который образуется при спонтанном дезаминировании цитозина. В мутантных клетках, утративших этот фермент, повышается доля мутаций в парах G≡C по сравнению с мутациями в парах A=T. Эта гликозилаза не удаляет

остатки урацила из РНК или остатки тимина из ДНК. Необходимость дискриминации тимина и урацила (продукта дезаминирования цитозина) для селективной репарации цитозина может быть одной из причин, по которой в состав ДНК входит тимин, а не урацил (см. с. 416 в т. 1).

У большинства бактерий есть только один тип урацил-ДНК-гликозилазы, а у человека существует по меньшей мере четыре типа с различной специфичностью — это показатель важности удаления урацила из ДНК. Наиболее распространенная урацил-гликозилаза человека, UNG, связывается с реплисомой и вырезает остатки урацила, случайно встроенные вместо тимина в ходе репликации. Дезаминирование остатков цитозина происходит в 100 раз быстрее в одноцепочечной ДНК, чем в двухцепочечной, и у человека есть специальный фермент hSMUG1, который удаляет любые остатки урацила в одноцепочечной ДНК в ходе репликации или транскрипции. Две другие ДНК-гликозилазы человека, TDG и MBD4, удаляют спаренные с гуанином остатки урацила и тимина, образованные дезаминированием цитозина или 5-метилцитозина соответственно.

Другие ДНК-гликозилазы распознают и удаляют различные поврежденные основания, включая формамидопиримидин и 8-гидроксигуанин (оба образуются при окислении пурина), гипоксантин (образуется при дезаминировании аденина) и алкилированные основания, такие как 3-метиладенин и 7-метилгуанин. В некоторых классах организмов также были идентифицированы гликозилазы, которые распознают другие дефекты, включая пиримидиновые димеры. Вспомните, что AP-сайты образуются также в результате медленного спонтанного гидролиза N-гликозидных связей в ДНК (см. рис. 8-30, б в т. 1).

Образованный ДНК-гликозилазой AP-сайт устраняют другие ферменты. Репарация проис-

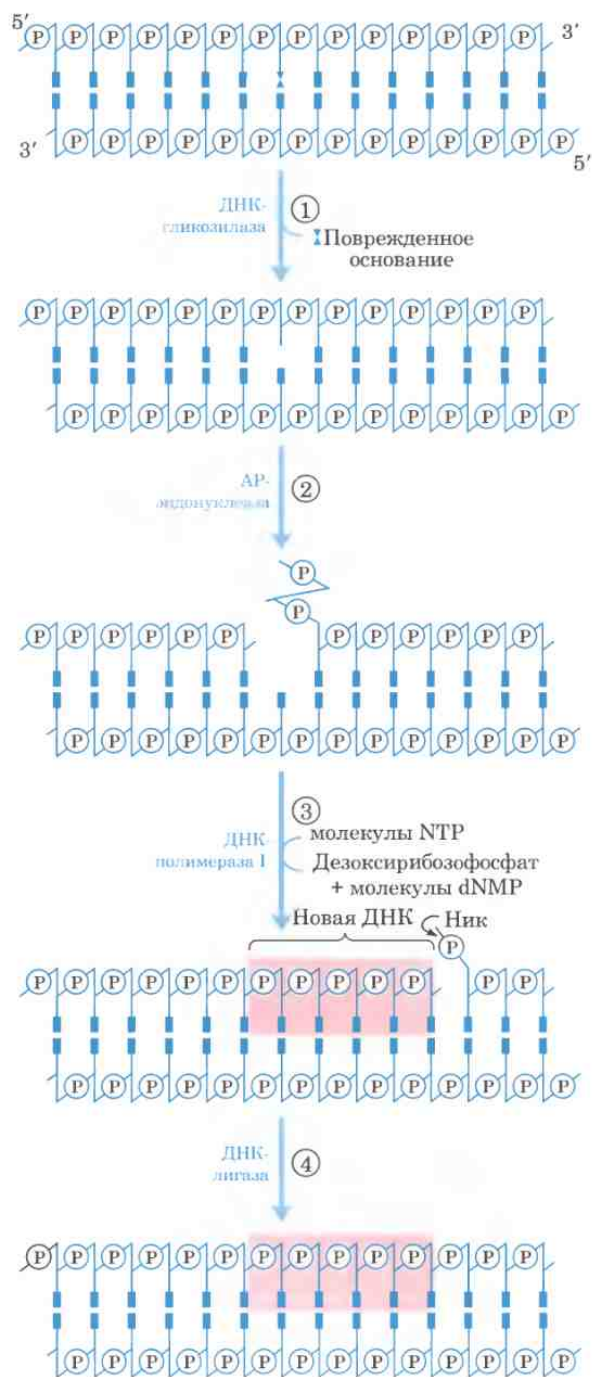


Рис. 25-25. Эксцизионная репарация оснований. ① ДНК-гликозилаза распознает поврежденное основание и отщепляет его от дезоксирибозы в цепи ДНК. ② АР-эндонуклеаза расщепляет фосфодиэфирную связь около АР-сайта. ③ ДНК-полимераза I инициирует репарационный синтез, начиная от свободной 3'-гидроксильной группы в нике, при этом удаляется (с помощью 5'→3'-экзонуклазной активности) часть поврежденной цепи и происходит замена ее на новую ДНК. ④ Ник, оставшийся после диссоциации ДНК-полимеразы I, ликвидирует ДНК-лигаза.

ходит не просто путем присоединения нового основания и восстановления N-гликозидной связи. Вместо этого удаляется оставшийся дезоксирибозо-5'-фосфат и встраивается новый нуклеотид. Этот процесс начинается одна из **АР-эндонуклеаз**, расщепляющих цепь ДНК, в которой содержится АР-сайт. Положение разреза относительно АР-сайта (со стороны 3'- или 5'-конца) зависит от типа АР-эндонуклеазы. Затем участок ДНК, включающий АР-сайт, удаляется, ДНК-полимераза I достраивает ДНК, а ДНК-лигаза ликвидирует оставшийся ник (**рис. 25-25**). У эукариот замену нуклеотидов выполняют специализированные полимеразы, как описано ниже.

Эксцизионная репарация нуклеотидов. Повреждения ДНК, которые вызывают значительные искажения спиральной структуры, обычно восстанавливаются системой эксцизионной репарации нуклеотидов. Этот путь репарации принципиально важен для выживания всех свободноживущих организмов. В этой системе репарации (**рис. 25-26**) мультисубъединичный фермент гидролизует две фосфодиэфирные связи — по одной с каждой стороны от дефекта. У *E. coli* и других бактерий ферментная система гидролизует 5-фосфодиэфирную связь с 3'-конца и 8-фосфодиэфирную связь с 5'-конца, создавая фрагмент из 12–13 нуклеотидов (в зависимости от того, одно или два

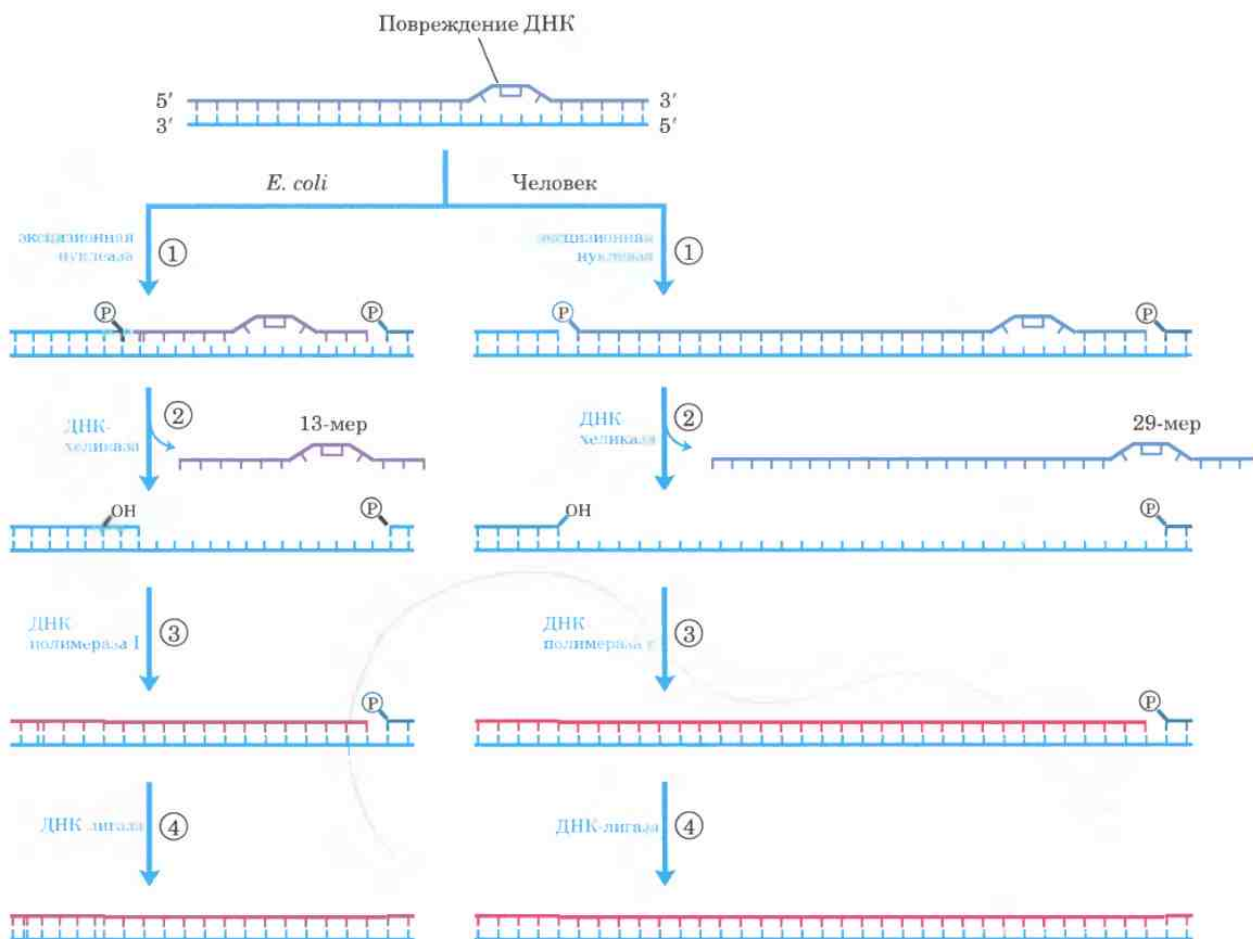


Рис. 25-26. Эксцизионная репарация нуклеотидов у *E. coli* и человека. Основной путь репарации путем вырезания нуклеотидов почти одинаков у всех организмов. ① Эксцизионная нуклеаза связывается с ДНК в месте крупного повреждения и расщепляет поврежденную цепь ДНК с обеих сторон от повреждения. ② Фрагмент ДНК длиной 13 нуклеотидов (13-мер) или 29 нуклеотидов (29-мер) удаляется с помощью хеликазы. ③ Брешь заполняется ДНК-полимеразой, а ④ оставшийся ник ликвидируется ДНК-лигазой.

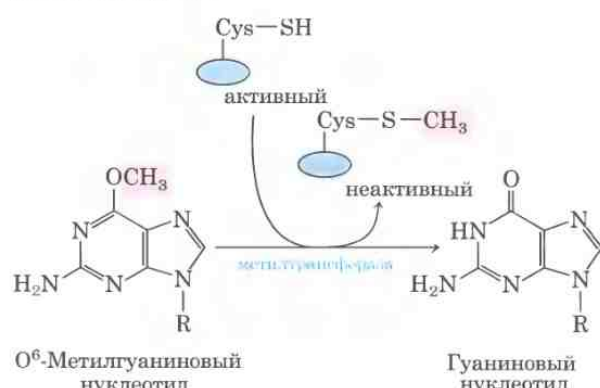
основания повреждено). У человека и других эукариот ферментная система гидролизует 6-ю фосфодиэфирную связь с 3'-конца и 22-ю фосфодиэфирную связь с 5'-конца, образуя фрагмент из 27–29 нуклеотидов. В результате двустороннего разреза из дуплекса высвобождается нуклеотид с поврежденным участком, а образующаяся брешь заполняется у *E. coli* ДНК-полимеразой I, а у человека — ДНК-полимеразой ϵ . Ник запечатывает ДНК-лигаза.

У *E. coli* ключевую роль в этом процессе исполняет эксцизионная нуклеаза ABC, состоящая из трех субъединиц: UvrA ($M_r = 104\,000$), UvrB ($M_r = 78\,000$) и UvrC ($M_r = 68\,000$). Определение «эксцизионная нуклеаза» описывает уникальную способность этого ферментного комплекса катализировать двойное специфическое расщепление, что отличает его от обычных эндонуклеаз. Комплекс белков UvrA и UvrB (A_2B) сканирует ДНК и связывается в месте повреждения. Затем димер UvrA диссоциирует, оставляя прочный комплекс UvrB–ДНК. После этого с UvrB связывается белок UvrC, и UvrB производит расщепление 5-й фосфодиэфирной связи со стороны 3'-конца от повреждения. Далее следует UvrC-опосредованное расщепление 8-й фосфодиэфирной связи со стороны 5'-конца. Образующийся фрагмент из 12–13 нуклеотидов удаляется ДНК-хеликазой. Получившаяся небольшая брешь устраняется ДНК-полимеразой I и ДНК-лигазой. Это основной путь репарации для многих типов повреждений (см. рис. 25-26. слева), включая цикlobутановые пиримидиновые димеры, 6,4-фотопродукты (см. рис. 8-31 в т. 1) и некоторые другие аддукты, включая бензо[*a*]пиренгуанин, который образуется в ДНК под воздействием табачного дыма. Нуклеолитическая активность эксцизионной нуклеазы ABC отличается от активности других эндонуклеаз тем, что она одновременно производит два разреза в ДНК.

Механизм работы эукариотических эксцизионных нуклеаз чрезвычайно схож с аналогичным механизмом бактериального фермента, хотя для двойной эксцизии в клетках эукариот необходимы 16 полипептидов, не имеющих сходства с субъединицами эксцизионной нуклеазы *E. coli*. Как описано в гл. 26, эксцизионная репарация нуклеотидов и оснований у эукариот тесно связана с транскрипцией. Генетические дефекты системы эксцизионной репарации нуклеотидов — причина различных серьезных заболеваний человека (см. доп. 25-1).

Прямая репарация. Некоторые типы повреждений устраняются без удаления нуклеотида или основания. Наиболее характерный пример — прямая фотореактивация цикlobутановых пиримидиновых димеров, которая осуществляется **ДНК-фототелиазами**. Пиримидиновые димеры образуются в индуцируемой УФ-облучением реакции, и фототелиазы используют энергию поглощенного света для устранения повреждения (рис. 25-27). Фототелиазы обычно содержат два кофактора, которые действуют как светопоглощающие агенты (хромофоры). Одним из хромофоров всегда является FADH⁻. У *E. coli* и дрожжей другой хромофор — фолат. В ходе реакции образуются свободные радикалы. В клетках плацентарных млекопитающих (в т.ч. у человека) ДНК-фототелиазы отсутствуют.

Другим примером может служить репарация нуклеотидов, дефект в которых вызван алкилированием. Модифицированный нуклеотид O⁶-метилгуанин образуется в присутствии алкилирующих агентов — это широко распространенное и сильно мутагенное повреждение (см. с. 419 в т. 1). В ходе репликации он легче образует пару с тиминном, чем с цитозинном, и в результате происходят замена пары G=C на A=T (рис. 25-28). Прямую репарацию O⁶-метилгуанина производит O⁶-метилгуанин-ДНК-метилтрансфераза, которая катализирует перенос метильной группы на один из своих остатков Cys. Эта метилтрансфераза не истинный фермент, поскольку в результате однократного переноса метильной группы она остается метилированной и выбывает из процесса. Расход целой белковой молекулы для исправления одного поврежденного основания — очередная яркая иллюстрация приоритета целостности клеточной ДНК.



По иному, но тоже прямому механизму идет репарация 1-метиладенина и 3-метилцитозина. Аминогруппы остатков А и С иногда метилируются (обычно в одноцепочечной ДНК), и это влияет на правильность спаривания оснований. У *E. coli* окис-

лительное деметилирование подобных алкилированных нуклеотидов опосредует белок AlkB — представитель суперсемейства α -кетоглутарат- Fe^{2+} -зависимых диоксигеназ (рис. 25-29). (Описание другого фермента из этой группы см. в доп. 4-3 в т. 1.)

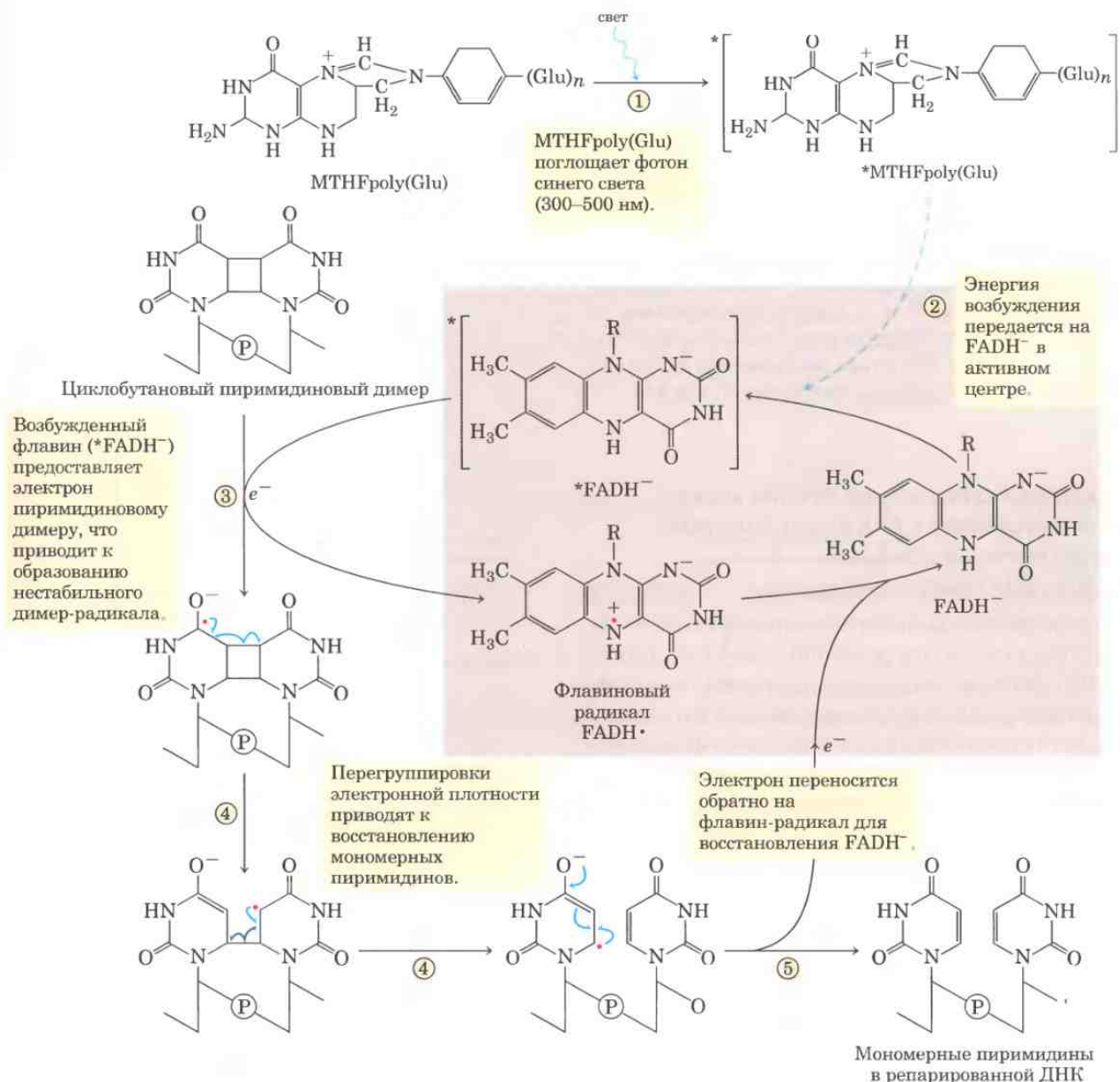


Рис. 25-27. МЕХАНИЗМ РЕАКЦИИ. Устранение пиридиновых димеров фотолизой. Энергия поглощенного света используется для ликвидации последствий фотореакции, вызвавшей повреждение. У *E. coli* совместно работают два хромофора фотолизы ($M_r = 54\,000$): $\text{N}^5, \text{N}^{10}$ -метенилтетрагидрофоллполиглутамат (MTHFpolyGlu) и FADH⁻. MTHFpolyGlu выполняет функцию антенны, поглощая фотоны синего света (300–500 нм). Энергия возбуждения передается на FADH⁻, и возбужденный флавин (*FADH⁻) отдает электрон пиридиновому димеру, устраняя повреждение.

а

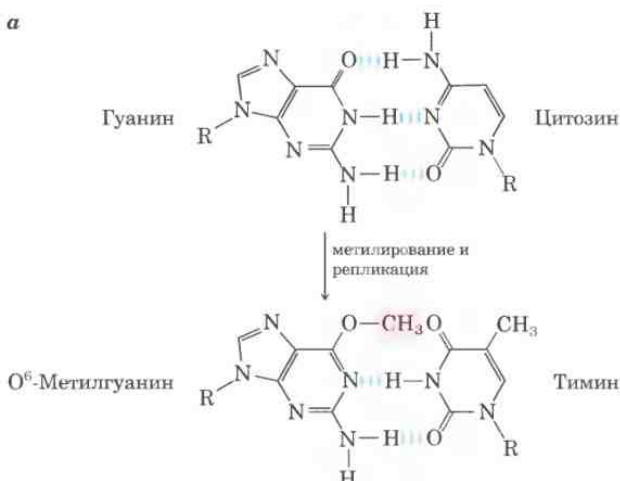
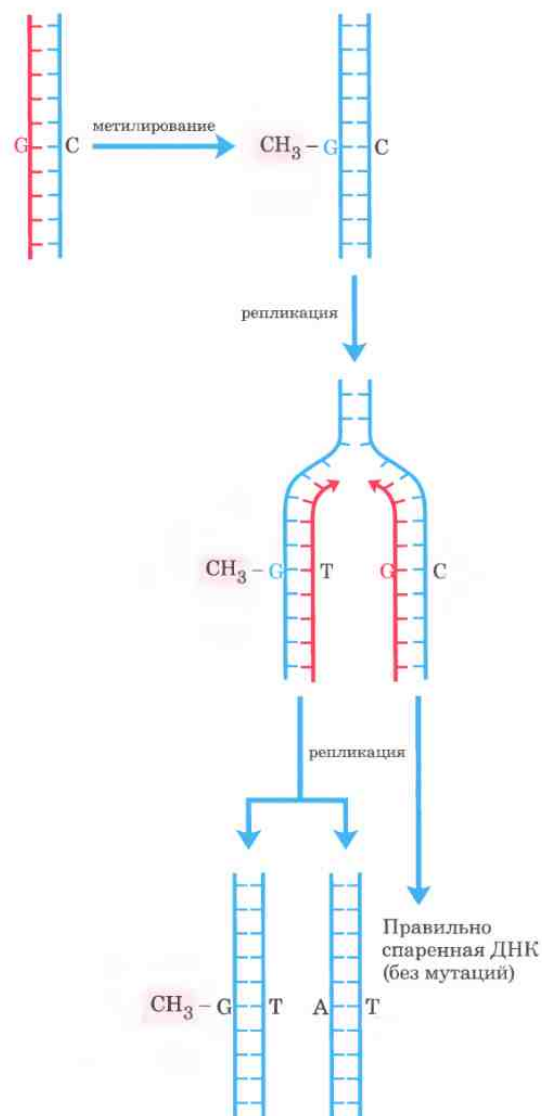


Рис. 25-28. Пример образования мутаций в результате повреждения ДНК. *а* — продукт метилирования О⁶-метилгуанин легче образует пару с тиминном, чем с цитозином. *б* — при отсутствии репарации это приводит к мутации: после репликации G=C заменяется на A=T.

б



Взаимодействие репликативных вилок с повреждением в ДНК может запустить подверженный ошибкам синтез ДНК через повреждение

Рассмотренные выше пути репарации обычно действуют в случае повреждений в двухцепочечной ДНК, при этом точность восстановления генетической информации поврежденной цепи до первоначального состояния обеспечивает неповрежденная цепь. Однако при некоторых типах повреждений, например при двунитевых разрывах, поперечных сшивках или повреждениях в одноцепочечной ДНК, комплементарная цепь также оказывается разрушенной или отсутствует. Двунитевые разрывы и повреждения в одноцепочечной ДНК чаще всего возникают в тех случаях, когда репликативная вилка наталкивается на нерепарированное повреждение ДНК (рис. 25-30). Такие повреждения и поперечные сшивки ДНК, кроме того, могут быть результатом воздействия ионизирующей радиации и окислительных реакций.

При застопоривании бактериальной репликативной вилки возможны два пути репарации. В отсутствие второй цепи информация, необходимая для точной репарации, должна поступить от гомологичной хромосомы. Таким образом, система репарации использует гомологичную генетиче-

скую рекомбинацию. Рекомбинационная репарация ДНК подробно рассматривается в разд. 25.3. При некоторых обстоятельствах реализуется второй путь репарации — **подверженный ошибкам синтез ДНК через повреждение** (TLS — от англ. *translesion synthesis*). При активации этого пути репарация ДНК становится существенно менее точной и связана с высокой частотой мутаций. У бактерий подверженный ошибкам синтез ДНК через повреждение — часть стрессового ответа клетки на сильное повреждение ДНК, который называют **SOS-ответом**. Некоторые SOS-белки, например уже описанные UvrA и UvrB (табл. 25-6), всегда

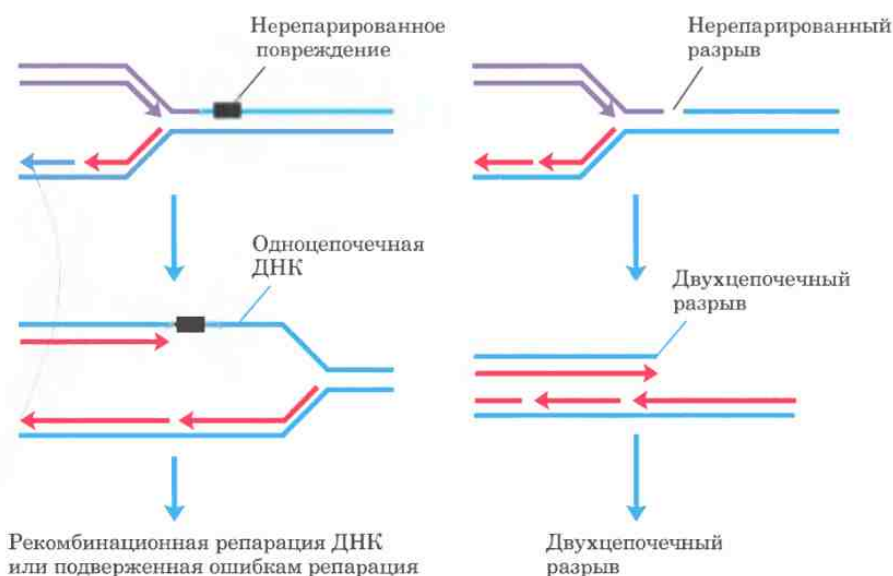
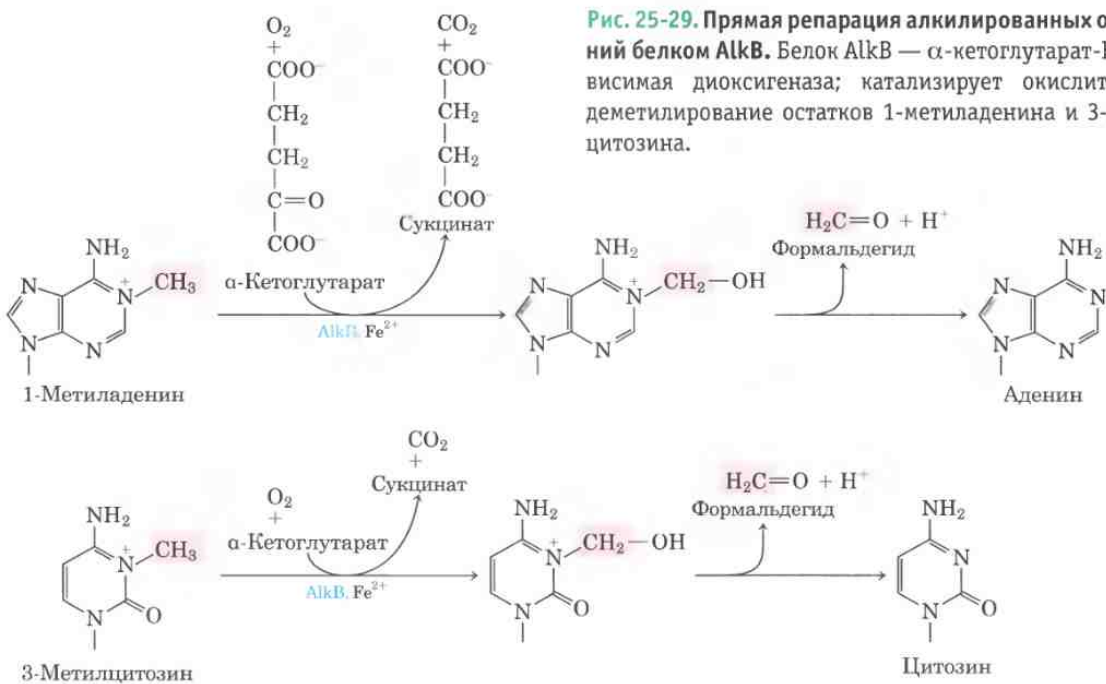


Рис. 25-30. Повреждения ДНК и их влияние на репликацию. Если репликативная вилка наталкивается на неисправленное повреждение или разорванную цепь, репликация обычно останавливается. *Слева:* повреждение, оставшееся в нереплицированном одноцепочечном сегменте ДНК; *справа:* двухцепочечный разрыв цепи. В любом случае повреждение в одной цепи не может быть устранено ранее описанными механизмами, поскольку комплементарная цепь, необходимая для точной репарации, повреждена или отсутствует. В таких случаях есть два возможных пути репарации: рекомбинационная репарация ДНК (см. рис. 25-37) или при слишком обширных повреждениях подверженная ошибкам репарация через повреждение. В последнем механизме задействована другая ДНК-полимераза (ДНК-полимераза V, кодируемая генами *umiC* и *umiD*), которая может реплицировать, хотя и с ошибками, участки ДНК с различными типами повреждений. Такой механизм называется репарацией, «подверженной ошибкам», из-за частого возникновения мутаций.

Таблица 25-6 Гены, индуцируемые как часть SOS-ответа у *E. coli*

Название гена	Кодируемый белок и/или его роль в репарации ДНК
Гены с известной функцией	
<i>polB (dinA)</i>	Кодирует субъединицу ДНК-полимеразы II с полимеразной активностью, необходимую для возобновления рекомбинационной репарации
<i>uvrA</i> } <i>uvrB</i> }	Кодируют субъединицы UvrA и UvrB АВС-экзонуклеазы
<i>umuC</i> } <i>umuD</i> }	Кодируют ДНК-полимеразу V
<i>sulA</i>	Кодирует белок, ингибирующий клеточное деление, возможно, высвобождая время для репарации ДНК
<i>recA</i>	Кодирует RecA белок, необходимый для подверженной ошибкам репарации и рекомбинационной репарации
<i>dinB</i>	Кодирует ДНК-полимеразу IV
<i>himA</i>	Кодирует субъединицу клеточного фактора интеграции (IHf), участвующего в сайт-специфической рекомбинации, репликации, транспозиции фагов, регуляции экспрессии генов
Гены метаболизма ДНК с неизвестной функцией в репарации	
<i>ssb</i>	Кодирует белок, связывающийся с одноцепочечной ДНК (SSB)
<i>uvrD</i>	Кодирует ДНК-хеликазу II (раскручивает ДНК)
<i>recN</i>	Необходим для рекомбинационной репарации
Гены, функция которых не установлена	
<i>dinD</i>	
<i>dinF</i>	

Некоторые из этих генов и их функции обсуждаются в гл. 28.

присутствуют в клетке, но при запуске SOS-ответа их уровень значительно повышается. В подверженной ошибкам репарации участвуют и другие SOS-белки, в том числе UmuC и UmuD («Umu» — от англ. *unmutable* — немутуируемый; без функционального гена *umu* подверженная ошибкам репарация отсутствует). В SOS-регулируемом процессе белок UmuD превращается в более короткий фрагмент UmuD', который в комплексе с UmuC образует специализированную ДНК-полимеразу (ДНК-полимеразу V), способную восстанавливать многие повреждения ДНК, блокирующие репликацию. В дефектном участке правильное спаривание оснований часто оказывается невозможным, поэтому такая репликация через повреждение сопровождается ошибками.

В этой главе мы многократно подчеркивали особое значение сохранности генома, и поэтому существование системы, повышающей вероятность возникновения мутаций, может показаться

странным. Использование этой системы можно воспринимать, как некий шаг отчаянья. Гены *umuC* и *umuD* полностью индуцируются только на поздней стадии SOS-ответа, они не активируются для синтеза, инициируемого расщеплением UmuD, до тех пор, пока уровень повреждений ДНК не становится слишком высоким, и блокируются все репликативные вилки. Мутации, возникающие в результате такой репликации, приводят к гибели одних клеток и опасны для других, но эту биологическую цену организм платит за то, чтобы не допустить прекращения репликации, поскольку это позволяет выжить хотя бы нескольким мутантным дочерним клеткам.

Наряду с ДНК-полимеразой V для репликации через поврежденный участок необходим белок RecA. Филаменты RecA, связанные с одноцепочечной ДНК в одном участке хромосомы, могут активировать комплексы ДНК-полимеразы V, связанные в отдаленных участках хромосомы. Ре-

ализации этого так называемого *транс*-механизма способствует образование петель, сближающих в пространстве удаленные друг от друга последовательности хромосом. В ходе SOS-ответа индуцируется еще одна ДНК-полимераза — ДНК-полимераза IV (продукт гена *dinB*). Репликация под действием ДНК-полимеразы IV также происходит с большим количеством ошибок. Бактериальные ДНК-полимеразы IV и V относятся к семейству TLS-полимераз, найденному у всех организмов. Эти ферменты не имеют корректирующей экзонуклеазной активности, а точность в выборе оснований при репликации в 10^2 раз ниже, что уменьшает точность репликации в целом примерно до одной ошибки на 1000 нуклеотидов.

У млекопитающих есть много ДНК-полимераз из семейства TLS-полимераз, отличающихся низкой точностью синтеза. Однако присутствие этих ферментов не является причиной повышенной частоты мутаций, поскольку большинство из них выполняют особые функции при репарации. ДНК-полимераза η , например, относится к TLS-полимеразам и обнаружена у всех эукариот. Она осуществляет синтез через поврежденные участки, главным образом, через циклобутановые Т–Т-димеры. В этом случае образуется немного мутаций, поскольку фермент предпочтительно вставляет два остатка А

против связанных остатков Т. У эукариот несколько полимераз, включая ДНК-полимеразы β , ι и λ , выполняют специальные функции с низкой точностью при эксцизионной репарации оснований. Каждый из этих ферментов наряду с полимеразной активностью имеет активность 5'-дезоксирибозофосфат-лиазы. После удаления основания гликозилазой и расщепления остова молекулы AP-эндонуклеазой эти ферменты удаляют AP-сайт (5'-дезоксирибозофосфат) и заполняют очень короткую брешь. Количество мутаций, возникающих при действии ДНК-полимеразы η , невелико по той причине, что она синтезирует очень короткие участки ДНК (часто в один нуклеотид).

В результате исследования систем репарации клеточной ДНК стало понятно, что метаболизм ДНК поддерживает целостность генома с помощью многочисленных и часто избыточных систем. В геноме человека более 130 генов кодируют белки, связанные с репарацией ДНК. Во многих случаях потеря функции одного гена приводит к нестабильности генома и повышению вероятности опухолевых заболеваний (доп. 25-1). Эти системы репарации часто работают в комплексе с системами репликации ДНК и дополняются системами рекомбинации, которые будут рассмотрены ниже.

Дополнение 25-1



МЕДИЦИНА

Репарация ДНК и рак

Рак у человека возникает, когда определенные гены, регулирующие нормальное клеточное деление (онкогены и опухолевые супрессоры; см. гл. 12 в т. 1), перестают нормально функционировать, изменяются или активируются не вовремя. В результате рост клеток может выйти из-под контроля — возникает опухоль. Гены, контролирующие клеточное деление, могут быть повреждены спонтанной мутацией или перекрываться инвазией опухолевого вируса (гл. 26). Неудивительно, что изменения в генах репарации ДНК, приводящие к усилению мутагенеза, могут значительно повысить индивидуальную чувствительность к раку. Все дефекты генов белков, участвующих в эксцизионной репарации оснований, репарации ошибочно спаренных оснований, рекомбинационной репарации и SOS-репарации, связаны с онкологическими заболеваниями. Итак, от репарации ДНК может зависеть жизнь и смерть.

Эксцизионная репарация оснований у человека, в отличие от бактерий, нуждается в большем числе белков, хотя в целом механизмы очень похожи. Генетические дефекты, сопровождающиеся инактивацией эксцизионной репарации оснований, связаны с несколькими генетическими заболеваниями, среди которых лучше других исследована пигментная ксеродерма, или ХР (от лат. *xeroderma pigmentosum*). Поскольку у человека эксцизионная репарация оснований — единственный способ репарации пиримидиновых димеров, люди с ХР очень чувствительны к свету и часто заболевают раком кожи, который индуцируется солнечным светом. У большинства больных ХР также выражены неврологические расстройства, предположительно из-за отсутствия у них репарации определенных



повреждений, вызванных высокой активностью окислительного метаболизма в нейронах. Дефекты в генах, кодирующих один из семи (как минимум) разных белковых компонентов системы эксцизионной репарации оснований, могут привести к семи генетическим вариантам ХР (от ХРА до ХРG). Некоторые из этих белков (особенно те, которые повреждены при ХРВ, ХРD и ХРG) также участвуют в сопряженной с транскрипцией репарации окислительных повреждений, как описано в гл. 26.

У большинства микроорганизмов есть дополнительные пути репарации циклобутановых пиримидиновых димеров — они могут использовать ДНК-фототиазную активность, а иногда и эксцизионную репарацию оснований в качестве альтернативного механизма эксцизионной репарации нуклеотидов, но у человека и других плацентарных млекопитающих такой возможности нет. Отсутствие альтернатив эксцизионной репарации нуклеотидов для удаления пиримидиновых димеров вызвало предположение, что на ранней стадии эволюции млекопитающие были мелкими животными, были покрыты мехом и вели ночной образ жизни, но очень нуждаясь в репарации повреждений, вызванных УФ-облучением. Однако у млекопитающих есть путь синтеза, позволяющий обойти циклобутановые пиримидиновые димеры, и в нем участвует ДНК-полимераза η . Этот фермент предпочтительно вставляет два остатка А напротив пиримидинового димера Т–Т, минимизируя вероятность мутации. Люди, у которых в силу генетических нарушений не работает ДНК-полимераза η , страдают заболеванием, похожим на пигментную ксеродерму (ХР-вариант V, или ХРV). Клинические проявления ХРV напоминают симптомы классической формы ХР, хотя уровень мутаций при ХРV бывает выше, когда клетки подвергаются воздействию УФ-облучения. По-видимому, в нормальных клетках система эксцизионной репарации нуклеотидов работает совместно с ДНК-полимеразой η , восстанавливая и/или обходя пиримидиновые димеры, что необходимо для нормального клеточного роста и репликации ДНК.

УФ-облучение приводит к появлению множества пиримидиновых димеров, и для поддержания репликации хотя бы часть из них приходится обходить путем синтеза через повреждение. Если одна из систем отсутствует, ее частично компенсирует другая система. Отсутствие активности полимеразы η приводит к остановке репликативных вилок и исправлению повреждений от УФ-света TLS-полимеразами, которые допускают гораздо больше ошибок. И если отсутствуют другие системы репарации ДНК, увеличение числа мутаций часто приводит к раку.

Один из распространенных наследуемых синдромов предрасположенности к возникновению злокачественных опухолей — наследственный неполипозный рак толстой кишки (ННРТК). Этот синдром связан с нарушением репарации ошибочно спаренных оснований. В клетках человека и других эукариот есть несколько белковых аналогов бактериальных белков MutL и MutS (см. рис. 25-23). Вероятность развития ННРТК могут повысить дефекты по крайней мере в пяти разных генах репарации ошибочно спаренных оснований. Особенно распространены дефекты в *hMLH1* (человеческий гомолог 1 MutL) и *hMSH2* (человеческий гомолог 2 MutS). У человека с ННРТК рак обычно развивается в раннем возрасте, и чаще всего это бывает рак толстой кишки.

Большинство случаев рака молочной железы у женщин возникает без известной генетической предрасположенности. Однако в 10% случаев это заболевание связано с наследственным дефектом двух генов — *BRCA1* и *BRCA2*. У человека белки *BRCA1* и *BRCA2* — это очень большие молекулы (1834 и 3418 аминокислотных остатков соответственно), которые взаимодействуют с многими другими белками, участвующими в транскрипции, поддержании хромосом, репарации ДНК и контроле клеточного цикла. Кроме того, белок *BRCA2* связан с рекомбинационной репарацией двухцепочечных разрывов. Однако точная молекулярная функция *BRCA1* и *BRCA2* в этих клеточных процессах до сих пор не установлена. Вероятность заболевания раком груди у женщин с дефектами в гене *BRCA1* или *BRCA2* превышает 80%.

Краткое содержание раздела 25.2 РЕПАРАЦИЯ ДНК

■ Клетки имеют несколько систем репарации ДНК. У *E. coli* репарация ошибочно спаренных оснований осуществляется при времен-

ном отсутствии метилирования последовательностей (5')GATC во вновь синтезированной цепи.

■ Системы эксцизионной репарации распознают и устраняют повреждения, вызванные

факторами внешней среды (такими, как радиация и алкилирующие агенты) и спонтанными реакциями нуклеотидов. Некоторые системы репарации распознают и вырезают только поврежденные или неправильные основания, оставляя AP-сайт (лишенный основания сайт) в ДНК, который вырезается и заполняется новой ДНК под действием других ферментов.

■ Системы эксцизионной репарации нуклеотидов распознают и удаляют различные крупные повреждения и пиримидиновые димеры. Они вырезают участок цепи ДНК, содержащий повреждение, и оставляют брешь, которую заделывают ДНК-полимераза и лигаза.

■ Некоторые повреждения ДНК ликвидируются в реакциях, обратных тем, которые вызывали дефект: пиримидиновые димеры превращаются в мономерные пиримидины с помощью фотодиазы, а метильная группа O⁶-метилгуанина удаляется метилтрансферазой.

■ При очень сильных повреждениях бактериальной ДНК происходит синтез новой последовательности через повреждение с участием TLS-полимеразы, допускающей достаточно много ошибок. Эукариоты имеют похожие полимеразы, выполняющие специализированные функции в репарации ДНК, что минимизирует количество мутаций.

25.3. Рекомбинация ДНК

Перестройка заключенной в молекулах ДНК генетической информации осуществляется благодаря протеканию многих разнообразных процессов, обобщенно называемых генетической рекомбинацией. В настоящее время генетические перегруппировки находят практическое применение для модификаций все большего числа геномов (гл. 9 в т. 1)

Выделяют три основных типа генетической рекомбинации. **Гомологичная генетическая рекомбинация** (общая рекомбинация) представляет собой обмен генами между двумя любыми молекулами ДНК (или участками одной и той же молекулы), которые содержат протяженные отрезки



Барбара МакКлинток,
1902–1992

почти идентичной последовательности. Последовательности могут быть любыми, главное, чтобы они были похожими. При **сайт-специфической рекомбинации** происходят обмен только *определенных* последовательностей ДНК. **Транспозиция ДНК** отличается от двух других типов генетической рекомбинации тем, что в ней обычно участвует короткий участок ДНК, обладающий способностью перемещаться по хромосоме с одного сайта на другой. Такие «прыгающие» гены впервые были обнаружены Барбарой МакКлинток в 1940-х гг. в геноме кукурузы. Кроме того, существуют и разные другие необычные генетические перестройки, механизм и значение которых пока не установлены. В этой книге мы рассмотрим только три основных типа рекомбинации.

Функции систем генетической рекомбинации так же разнообразны, как и их механизмы. К ним относится участие в специализированных системах репарации ДНК, определенная активность при репликации ДНК, регуляция экспрессии некоторых генов, облегчение расхождения хромосом при делении эукариотических клеток, поддержание генетического разнообразия и реализация запрограммированных генетических перестроек в ходе эмбрионального развития. В большинстве случаев генетическая рекомбинация тесно связана с другими процессами метаболизма ДНК, и эта связь будет рассмотрена далее.

Гомологичная генетическая рекомбинация выполняет несколько функций

У бактерий гомологичная генетическая рекомбинация служит для репарации ДНК и, как отмечалось в разд. 25.2, называется **рекомбинационной репарацией ДНК**. Обычно она направлена на восстанов-

ление репликативных вилков, застопорившихся на месте повреждений в ДНК. Гомологичная генетическая рекомбинация также может происходить при конъюгации (скрещивании), когда хромосомная ДНК переносится из одной бактериальной клетки (клетки донора) в другую (клетку реципиента). Рекомбинация в ходе конъюгации, хотя и редко происходит в популяциях бактерий, вносит вклад в генетическое разнообразие.

У эукариот гомологичная генетическая рекомбинация выполняет несколько функций в процессах репликации и деления клеток, включая репарацию застопорившихся репликативных вилков. Чаще всего рекомбинация происходит в ходе **мейоза** — процесса, с помощью которого зародышевые клетки с двойным набором хромосом делятся с образованием гаплоидных гамет (сперматозоидов или яйцеклеток у животных или гаплоидных спор у растений); каждая гамета получает по одной хромосоме из каждой пары (рис. 25-31). Мейоз начинается с репликации ДНК в родительской клетке, так что в какой-то момент каждая молекула ДНК присутствует в четырех копиях. Затем клетки проходят две стадии

клеточного деления без промежуточной стадии репликации ДНК. В результате в каждой гамете оказывается гаплоидное количество ДНК.

После репликации ДНК в профазе первого мейотического деления образовавшиеся се-

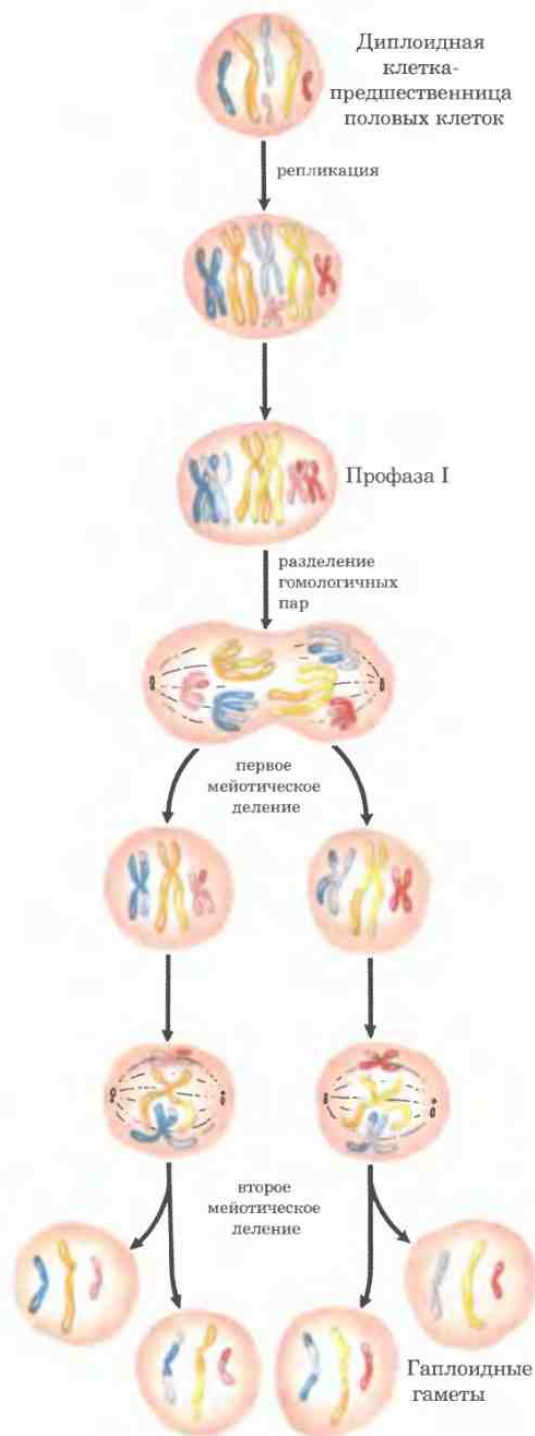


Рис. 25-31. Мейоз в зародышевой линии клеток животных. Хромосомы гипотетической диплоидной клетки зародышевой линии (шесть хромосом; три пары гомологов) реплицируются и остаются соединенными центромерами. Реплицированные двухцепочечные молекулы ДНК называются хроматидами (сестринские хроматиды). В профазе I непосредственно перед первым мейотическим делением три набора гомологичных хроматид выстраиваются в линию с образованием тетрад и остаются соединенными вместе ковалентными связями в местах гомологичных соединений (хиазм). В хиазмах происходит кроссинговер (рис. 25-32). Такие временные ассоциации между гомологами обеспечивают правильность расхождения хромосом на следующей стадии, когда они смещаются к противоположным полюсам делящейся клетки в первом мейотическом делении. Продуктами такого деления являются две дочерние клетки, каждая из которых содержит по три пары хроматид. Затем пары хроматиды на экваторе клетки и подготавливаются к разделению хроматид (теперь они называются хромосомами). В результате второго мейотического деления образуются четыре гаплоидные дочерние клетки, которые могут выступать в роли гамет. Каждая из этих клеток содержит по три хромосомы — половинный набор диплоидной клетки-предшественницы. Хромосомы подверглись перераспределению и рекомбинации.

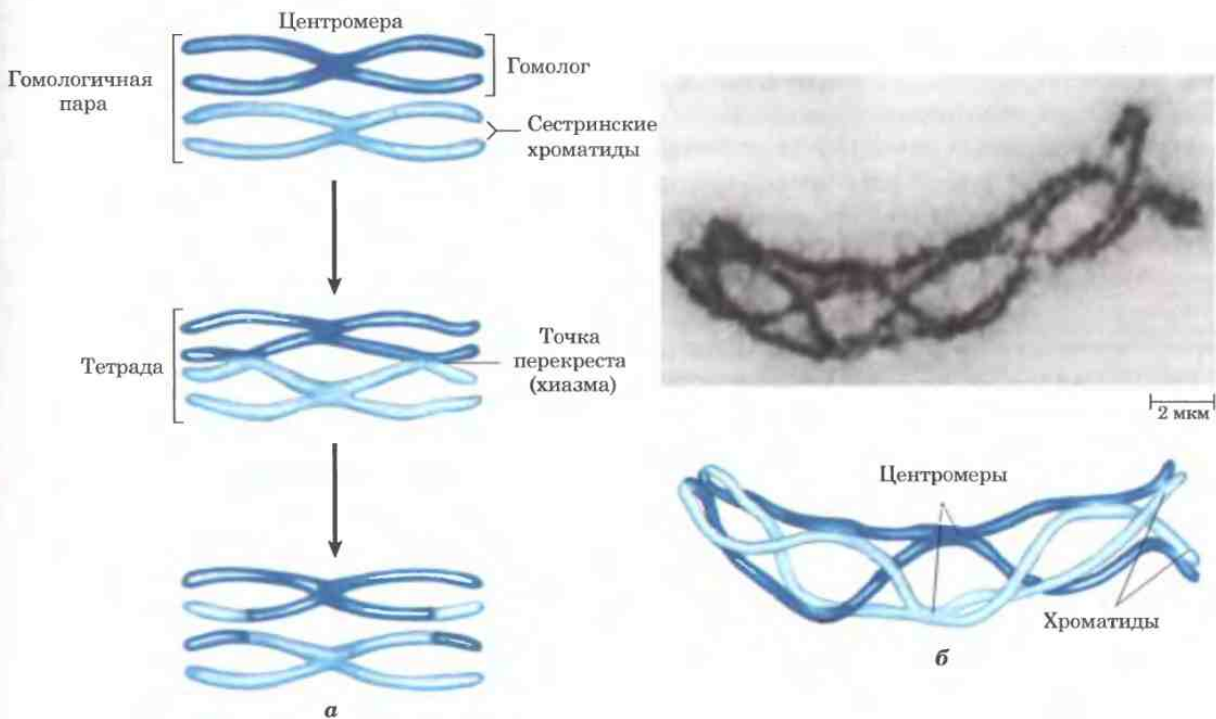


Рис. 25-32. Кроссинговер. а — кроссинговер часто приводит к обмену генетическим материалом. б — гомологичные хромосомы кузнечиков показаны на стадии профазы I мейоза. Между двумя гомологичными парами хроматид видно несколько точек контакта (хиазм). Эти хиазмы ясно указывают на произошедшую перед этим гомологичную рекомбинацию (кроссинговер).

сестринские хроматиды остаются связанными своими центромерами. На этой стадии каждый набор из четырех гомологичных хромосом (тетрада) существует в виде двух пар хроматид. Между тесно связанными гомологичными хроматидами происходит обмен генетической информацией путем гомологичной генетической рекомбинации, в ходе которой происходят разрывы и воссоединение последовательностей ДНК (рис. 25-32). Этот процесс, который иначе называют кроссинговером, можно наблюдать в световой микроскоп. Кроссинговер связывает вместе две пары сестринских хроматид в точках, называемых хиазмами.

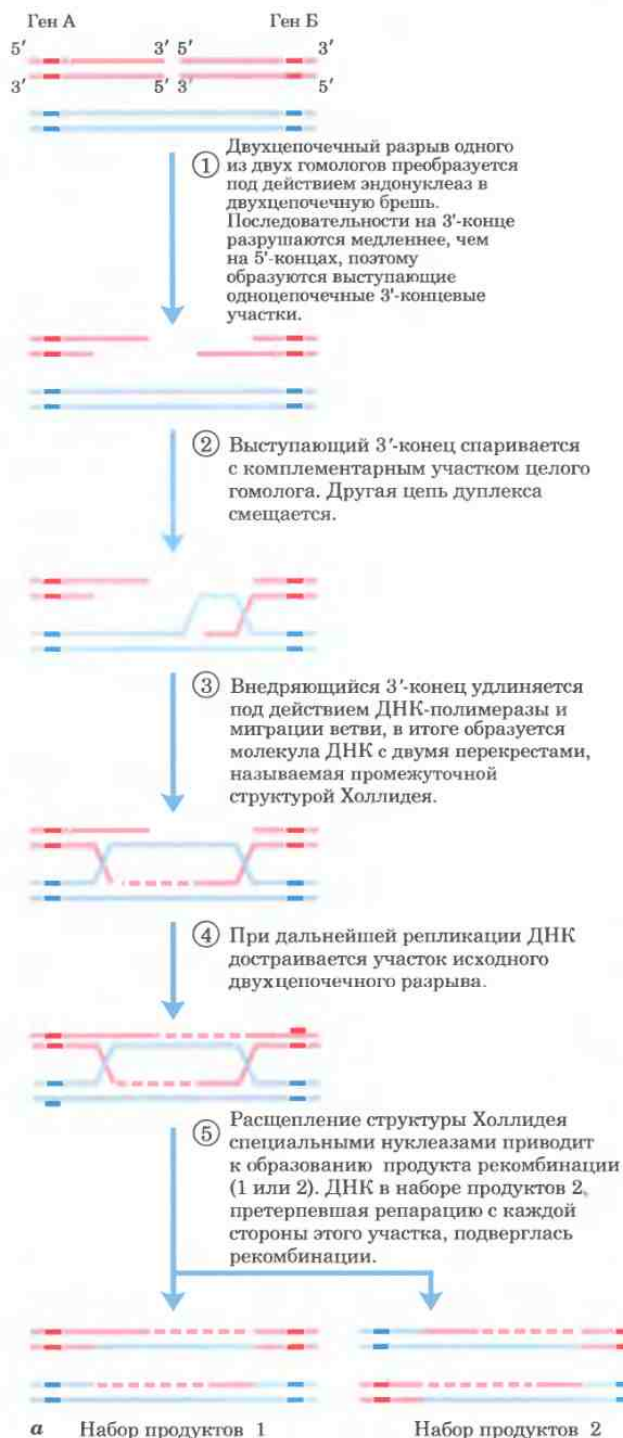
Кроссинговер эффективно физически связывает вместе все четыре гомологичные хроматиды, что важно для правильного расхождения хромосом в последующих мейотических клеточных делениях. Совершенно ясно, что кроссинговер — неслучайный процесс, его «горячие точки» были

обнаружены на многих эукариотических хромосомах. Однако представление о том, что кроссинговер может происходить почти в любой точке гомологичных хромосом, вполне допустимо как приближение при генетическом картировании. Вероятность гомологичной рекомбинации на любом участке, разделяющем две точки на хромосоме, примерно пропорциональна расстоянию между этими точками, и это позволяет определить относительное положение генов и расстояние между разными генами.

Итак, гомологичная рекомбинация, выполняет по меньшей мере три функции: (1) она используется в репарации нескольких типов повреждений ДНК; (2) в эукариотических клетках она обеспечивает временную физическую взаимосвязь между хроматидами, необходимую для точного расхождения хромосом на первой стадии мейотического деления; и (3) усиливает генетическое разнообразие в популяции.

Рекомбинация в ходе мейоза начинается с двухцепочечных разрывов

Возможный путь гомологичной рекомбинации в ходе мейоза рассмотрен на **рис. 25-33, а**. В этой модели отражены четыре ключевых момента.



Во-первых, гомологичные хромосомы выравниваются. Во-вторых, экзонуклеаза увеличивает двухцепочечный разрыв в молекуле ДНК, оставляя одноцепочечные участки с 3'-гидроксильной группой на конце (стадия ①). В-третьих, эти 3'-концы захватывают интактную дуплекс-

Рис. 25-33. Рекомбинация в ходе мейоза. **а** — модель репарации двухцепочечного разрыва в ходе гомологичной генетической рекомбинации. Две гомологичные хромосомы (одна показана голубым, другая красным цветом), участвующие в рекомбинации, имеют похожие последовательности. Каждый из двух показанных генов присутствует на двух хромосомах в виде разных аллелей. Стадии процесса описаны в тексте. **б** — между двумя бактериальными плазмидами *in vivo* образовалась структура Холлидея; фотография сделана с помощью электронного микроскопа. Эти структуры названы в честь Робина Холлидея, впервые предсказавшего их существование в 1964 г.



б

ную ДНК гомолога, после чего происходит **миграция ветви** (рис. 25-34) и/или репликация для создания пары кроссинговерных структур (структур Холлидея; рис. 25-33, а, стадии ②–④). В-четвертых, расщепление двух таких структур приводит к образованию двух конечных рекомбинантных продуктов (стадия ⑤).

В данной модели **репарации двухцепочечных разрывов** 3'-концы выполняют функцию инициаторов генетического обмена при рекомбинации. При их спаривании с комплементарной цепью интактного гомолога создается область гибридной ДНК, которая содержит комплементарные цепи от двух разных родительских ДНК (продукт стадии ② на рис. 25-33, а). Затем каждый из 3'-концов может действовать в качестве праймера для репликации ДНК. Образующиеся при этом структуры, называемые **структурами Холлидея** (рис. 25-33, б), — признак гомологичной генетической рекомбинации во всех организмах.

У разных видов гомологичная рекомбинация может различаться только в некоторых деталях, большинство же описанных выше стадий обычно присутствует в том или ином виде. Существуют два способа расщепления, или «разрешения», структуры Холлидея, приводящие к тому же

порядку расположения генов после рекомбинации, что и в исходных хромосомах (стадия ⑤ на рис. 25-33, а). При одном способе расщепления область, фланкирующая гибридную ДНК, оказывается рекомбинантной; при другом способе — нерекомбинантной. Оба результата наблюдаются *in vivo* у эукариот и прокариот.

Гомологичная рекомбинация, изображенная на рис. 25-33, — сложный процесс, который вносит вклад в генетическое разнообразие. Чтобы понять, каким образом это происходит, следует вспомнить, что две подвергающиеся рекомбинации гомологичные хромосомы *не обязательно идентичны*. Линейный порядок генов в них может быть одинаковым, но в некоторых генах последовательности оснований могут незначительно отличаться (в разных аллелях). Например, у человека одна хромосома может содержать аллель гемоглобина А (обычный гемоглобин), а другая — аллель гемоглобина S (серповидно-клеточная мутация). Различие может быть всего в одной паре оснований на миллион. Гомологичная рекомбинация не изменяет линейного порядка генов, но она может определять, какие аллели окажутся связанными друг с другом в одной хромосоме и вместе передадутся следующему поколению.

В рекомбинации участвует множество ферментов и других белков

Ферменты, стимулирующие разные стадии гомологичной рекомбинации, были выделены как у прокариот, так и у эукариот. У *E. coli* гены *recB*, *recC* и *recD* кодируют гетеротримерный фермент *recBCD*, который проявляет и хеликазную, и нуклеазную активности. Белок *RecA* стимулирует все ключевые стадии гомологичной рекомбинации: спаривание двух ДНК, образование промежуточных структур Холлидея и миграцию ветви (как описано ниже). Белки *RuvA* и *RuvB* (от англ. *repair of UV damage*) образуют комплекс, который связывается с промежуточными структурами Холлидея, вытесняют белок *RecA* и стимулируют миграцию ветви с большей скоростью, чем это делает белок *RecA*. Нуклеазы, которые специфически разделяют структуры Холлидея, часто называют резолвазами; они были выделены из бактерий и дрожжей, белок *RuvC* — один из двух, по меньшей мере, таких нуклеаз у *E. coli*.

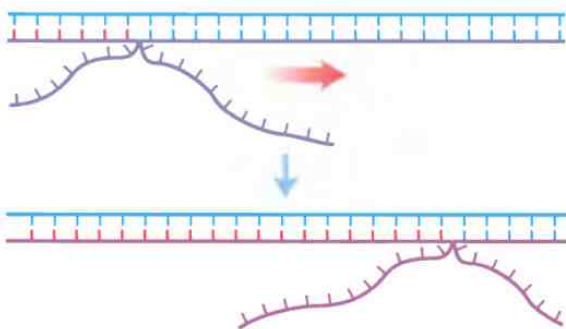


Рис. 25-34. Миграция ветви. Когда матричная цепь спаривается с двумя разными комплементарными цепями, в точке соединения трех цепей образуется разветвление. Это разветвление «мигрирует» по мере того, как нарушается спаривание между основаниями в комплементарных цепях и возникает спаривание между одной из комплементарных цепей и новой цепью. В отсутствие направляющего фермента ветвь может двигаться самопроизвольно в любом направлении. Такая самопроизвольная миграция ветви продолжается до тех пор, пока в одной из комплементарных цепей не встречается неидентичная последовательность.

Фермент RecBCD связывается с линейной ДНК со стороны свободного (расщепленного) конца и движется вдоль двойной спирали, раскручивая и расщепляя ДНК в реакции, сопряженной с гидролизом АТФ (рис. 25-35). Субъединицы RecB и RecD — это моторы геликазы: RecB движется по одной цепи в направлении $3' \rightarrow 5'$, а RecD — по другой цепи в направлении $5' \rightarrow 3'$. Активность фермента изменяется, когда он взаимодействует с последовательностью (5')GCTGGTGG, называемой **chi-последовательностью**. С этого момента расщепление цепи со свободным $3'$ -концом существенно замедляется, а разрушение цепи со свободным $5'$ -концом ускоряется. В результате образуется одноцепочечная ДНК со свободным $3'$ -концом, которая используется в последующих стадиях рекомбинации (рис. 25-33). В геноме *E. coli* рассредоточено 1009 chi-последовательностей, которые в 5–10 раз повышают частоту рекомбинации на расстояниях до 1000 п. н. вокруг. По мере удаления от chi-последовательности их влияние ослабевает. У некоторых других организмов тоже

были идентифицированы последовательности, увеличивающие частоту рекомбинации.

Белок RecA выделяется среди других белков метаболизма ДНК тем, что его активная форма представляет собой упорядоченную спиральную нить, содержащую до нескольких тысяч мономеров RecA, которые собираются вместе на ДНК (рис. 25-36). Нить белка RecA в норме образуется на одноцепочечной ДНК, например, под действием фермента RecBCD, но также может быть собрана на двухцепочечной ДНК с одноцепочечной брешью; в этом случае первые мономеры RecA связываются с одноцепочечной ДНК в брешии, после чего образующаяся нить быстро закручивается вокруг прилегающей дуплексной ДНК. Сборку и разборку нитей RecA регулируют другие белки, включая RecX, DinI, RecF, RecO и RecR.

Роль нити RecA в рекомбинации можно проиллюстрировать на модели замены цепи ДНК *in vitro* (рис. 25-37). Сначала RecA связывает одиночную цепь ДНК с образованием нуклеопroteinной нити. Затем нить RecA захватывает го-

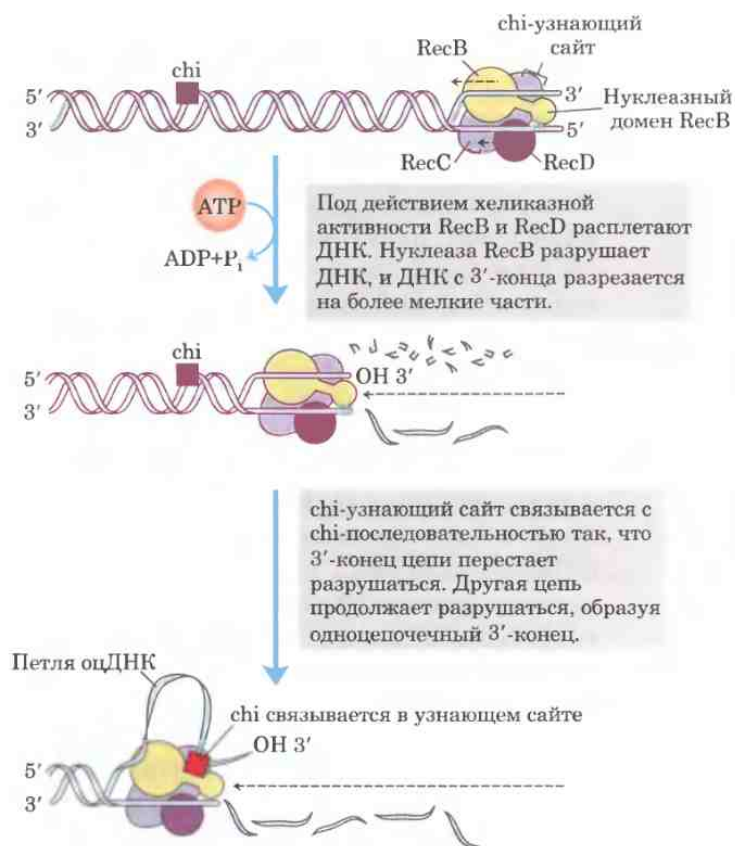


Рис. 25-35. Хеликазная и нуклеазная активности фермента RecBCD. Начиная с двухцепочечного конца, RecBCD раскручивает и расщепляет последовательность ДНК. Нуклеазный домен субъединицы RecB располагается так, что может разрушать либо одну цепь ДНК, либо другую. Субъединица RecB движется в направлении $3' \rightarrow 5'$ по одноцепочечной ДНК со свободным $3'$ -концом, действуя как АТФ-зависимая хеликаза. Субъединица RecD сходным образом движется по второй цепи в направлении $5' \rightarrow 3'$. Активный центр субъединицы RecC узнает и связывает chi-последовательности. Цепь, содержащая chi-последовательность, образует петлю, и для нуклеазного домена RecB остается доступной только цепь со свободным $5'$ -концом. Предполагается, что RecBCD инициирует генетическую рекомбинацию у *E. coli*. Он также участвует в репарации двухцепочечных разрывов в местах разрушения репликативных вилков.

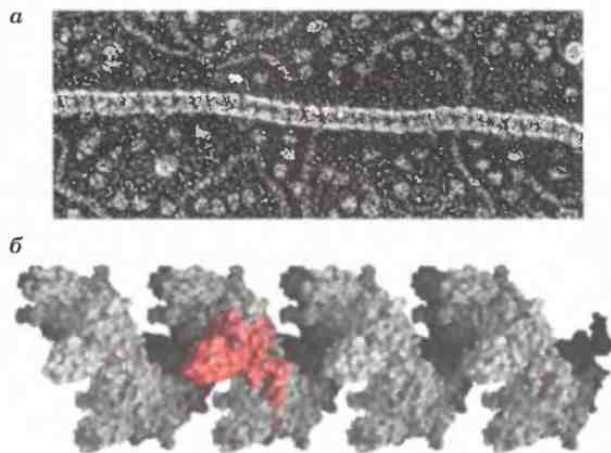
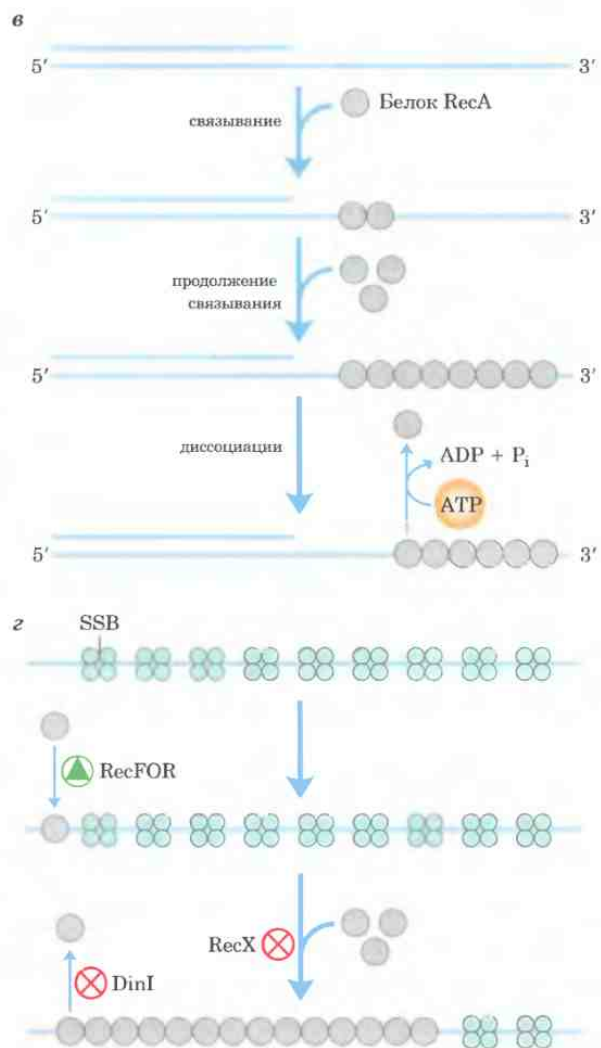


Рис. 25-36. Белок RecA. *а* — нуклеопротеиновый комплекс белка RecA с одноцепочечной ДНК (электронная микрофотография). Поперечные черточки свидетельствуют о том, что структура нити имеет вид правозакрученной спирали. *б* — объемная модель нити из 24 субъединиц RecA. Нить содержит шесть субъединиц на виток. Одна субъединица окрашена в красный цвет, чтобы ее можно было разглядеть на фоне остальных (по PDB ID 2REB). *в* — после лимитирующей стадии посадки комплекса RecA на одноцепочечной ДНК нити удлиняются в направлении 5'→3'. Разборка происходит также в направлении 5'→3' со стороны, противоположной приращению цепи. *г* — в сборке нитей участвуют белки RecF, RecO и RecR (общее обозначение RecFOR). Белок RecX ингибирует удлинение нитей RecA. Белок DinI стабилизирует RecA, предотвращая разборку.



мологичную двухцепочечную ДНК и соединяет ее со связанной одиночной цепью. Для образования активной нити RecA, которая соединяет две молекулы ДНК, необходимо связывание (но не гидролиз) АТФ. После этого две молекулы ДНК обмениваются цепями, и в результате возникает гибридная ДНК. Обмен происходит со скоростью 6 п. н./с в направлении 5'→3' относительно одноцепочечной ДНК в составе нити RecA. В этой реакции могут участвовать три или четыре цепи ДНК (рис. 25-37); в последнем случае в ходе процесса образуются структуры Холлидея.

Когда ДНК-дуплекс включается в состав нити RecA и выравнивается рядом со связанной

одиночной цепью ДНК на участке протяженностью в сотни пар оснований, одна из цепей дуплекса может поменять партнера (рис. 25-38, стадия ②). Поскольку ДНК обладает спиральной структурой, непрерывный обмен цепей требует упорядоченного вращения двух соседних ДНК. Это осуществляется путем перемотки (стадии ③ и ④), в результате чего точка ветвления смещается вдоль спирали. Заключительные стадии обмена цепей ДНК, во время которых происходит удлинение гибридной ДНК, образовавшейся на первой стадии, происходят за счет гидролиза АТФ. Механизм сопряжения реакций пока неясен.

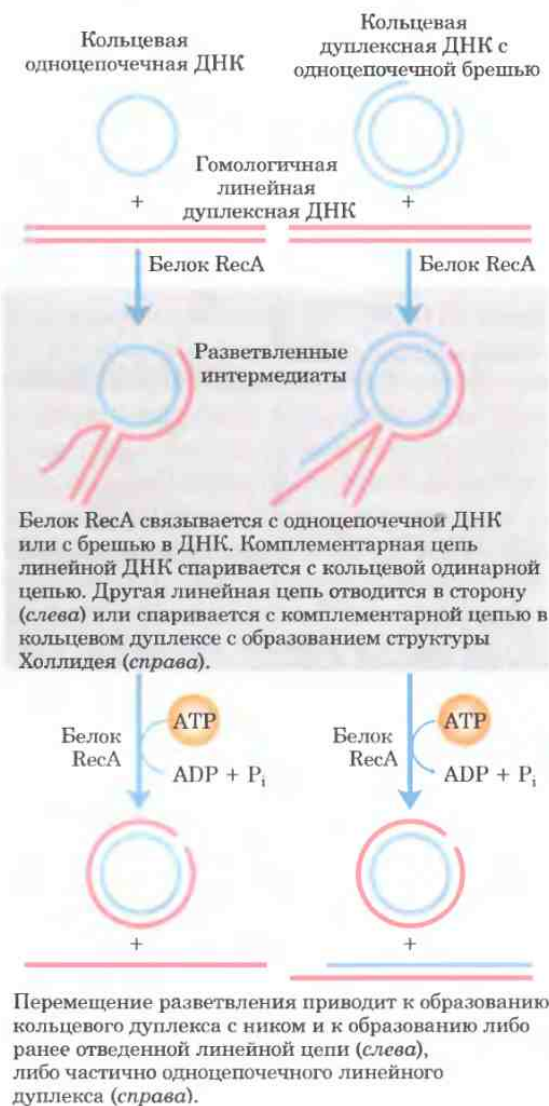


Рис. 25-37. Обмен цепей ДНК, индуцируемый белком RecA *in vitro*. Замена цепи включает отделение одной цепи дуплекса от комплементарной цепи и ее перенос на другую комплементарную цепь для формирования нового дуплекса (гетеродуплекса) ДНК. В этом процессе образуется разветвленная промежуточная структура, образование конечного продукта зависит от миграции ветви, которой способствует RecA. В реакции могут участвовать три цепи (слева) или при взаимообмене между двумя гомологичными дуплексами четыре цепи (справа). В последнем случае интермедиат представляет собой структуру Холлидея. Белок RecA способствует миграции ветви, используя энергию гидролиза ATP.

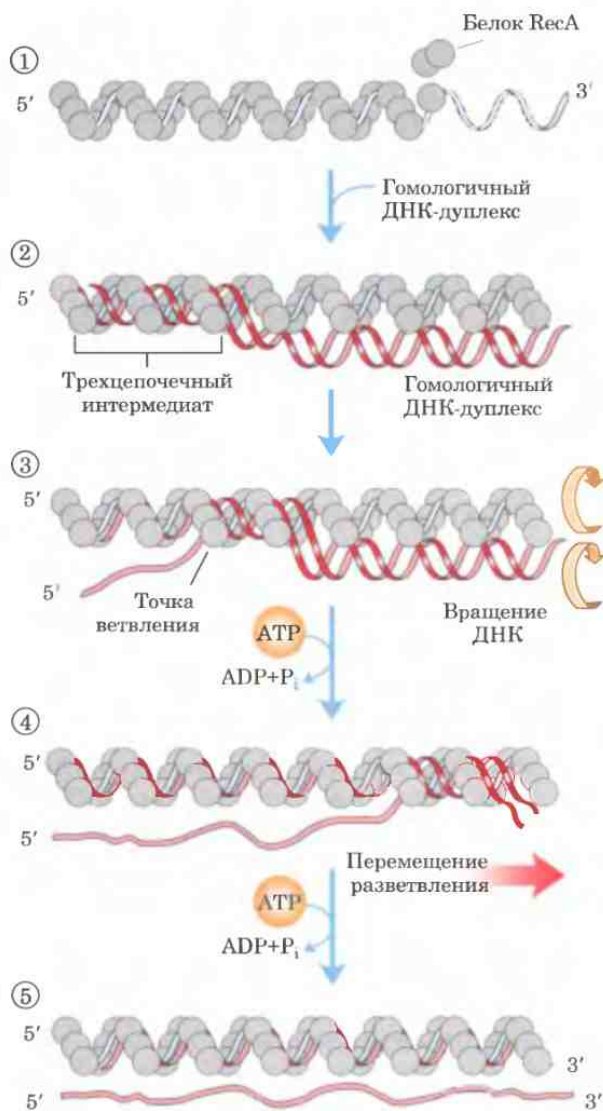


Рис. 25-38. Модель RecA-опосредованного обмена цепей ДНК. Показана реакция с участием трех цепей ДНК. Размер шариков, которыми обозначены молекулы белка RecA, непропорционально мал по сравнению с толщиной ДНК, что позволяет продемонстрировать происходящие в ДНК изменения. ① Белок RecA образует спираль вокруг одноцепочечной ДНК. ② В комплекс включается гомологичный ДНК-дуплекс. ③ По мере того как в результате вращения начало трехцепочечного участка смещается слева направо, одна из цепей дуплекса занимает место одиночной цепи, исходно связанной с нитью белка. Другая цепь дуплекса вытесняется, а внутри нити белка формируется новый дуплекс. По мере продолжения вращения (④ и ⑤) вытесненная цепь полностью высвобождается. В данной модели гидролиз ATP белком RecA приводит к повороту двух молекул ДНК относительно друг друга и тем самым продвигает обмен цепей в направлении слева направо.

После образования структуры Холлидея для завершения рекомбинации необходима целая группа ферментов: топоизомеразы, белок миграции вилка RuvAB, резолваза и другие нуклеазы, ДНК-полимераза I или III и ДНК-лигаза. В клетках *E. coli* белок RuvC ($M_r = 20\ 000$) расщепляет структуры Холлидея с образованием полноразмерных неразветвленных хромосом.

Для репарации заблокированных репликативных вилок используются все возможности метаболизма ДНК

Как и во всех других клетках, у бактерий уровень повреждений ДНК достаточно высокий даже в нормальных условиях роста. Большинство повреждений ДНК быстро репарируется путем эксцизионной репарации оснований, нуклеотидов и другими описанными ранее способами. Тем не менее почти каждая бактериальная репликативная вилка наталкивается на нерепарированное повреждение ДНК или разрыв на пути от точки начала репликации до точки ее окончания (рис. 25-30). ДНК-полимераза III не может пройти мимо многих типов повреждений ДНК, что вынуждает ее оставить эти повреждения в виде одноцепочечной брешы. Когда полимераза встречается с разрывом цепи ДНК, возникает двухцепочечный разрыв. В обеих ситуациях необходима рекомбинационная репарация ДНК (рис. 25-39). В нормальных условиях роста застопорившиеся репликативные вилки реактивируются с помощью сложного пути репарации, включающего рекомбинационную репарацию ДНК, повторный старт репликации и репарацию всех пропущенных повреждений. В этом процессе объединяются все пути метаболизма ДНК.

Остановившаяся репликативная вилка может быть снова запущена по меньшей мере двумя сложными способами, для каждого из которых требуется белок RecA. Путь репарации повреждений, содержащих брешы в ДНК, задействует также белки RecF, RecO и RecR. Для репарации двухцепочечных разрывов необходим фермент RecBCD (рис. 25-39). После дополнительных стадий рекомбинации следует процесс, называемый **возобновлением репликации, независимым от точки инициации репликации**, когда с помощью комплекса из семи белков (PriA, B и C, а также DnaB, C, G и T) снова собирается

репликативная вилка. Этот комплекс, первоначально открытый в процессе репликации ДНК фага $\phi X174$ *in vitro*, теперь называется **праймсомой восстановления репликации**. Для восстановления репликативной вилки необходима также ДНК-полимераза II, причем ее роль пока не установлена; активность ДНК-полимеразы II открывает дорогу ДНК-полимеразе III для репликации протяженных участков, что необходимо для завершения построения хромосомы. Иногда происходит возобновление репликации ниже точки повреждения еще до репарации поврежденного участка.

Репарация застопорившихся вилок предусматривает координированный переход между репликацией и рекомбинацией. Стадии рекомбинации нужны для заполнения брешы в ДНК или соединения разорванной цепи, чтобы воссоздать разветвленную структуру ДНК в репликативной вилке. Повреждения, оставшиеся позади дуплекса ДНК, устраняются при помощи эксцизионной репарации оснований или нуклеотидов. Таким образом, в репарации застопорившихся репликативных вилок участвует широкий круг ферментов, действующих на каждой стадии метаболизма ДНК. Этот способ репарации, очевидно, является главной функцией системы гомологичной рекомбинации в каждой клетке, и нарушения рекомбинационной репарации ДНК играют важную роль в возникновении заболеваний человека (доп. 25-1).

Сайт-специфическая рекомбинация приводит к точным перестройкам ДНК

Гомологичная генетическая рекомбинация, которую мы обсуждали, может происходить между любыми двумя гомологичными последовательностями. Второй тип рекомбинации, сайт-специфическая рекомбинация, принципиально отличается тем, что ограничивается только специфическими последовательностями. Реакции рекомбинации данного типа происходят почти в каждой клетке, и их функции различны в разных видах организмов. Например, таков механизм регуляции экспрессии некоторых генов и механизм активации программируемых перестроек ДНК при эмбриональном развитии или в циклах репликации некоторых вирусных и плазмидных ДНК. Каждая система сайт-специфической

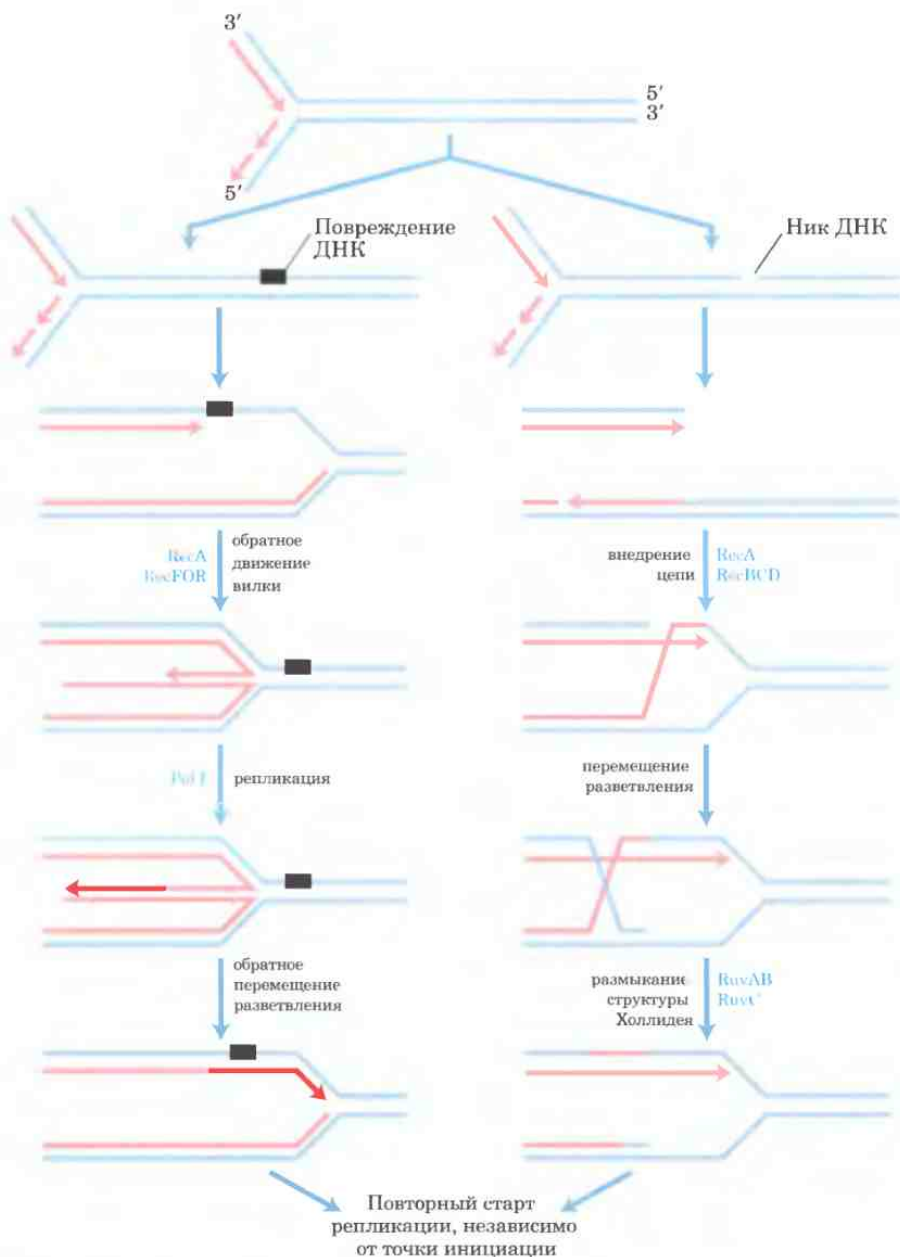
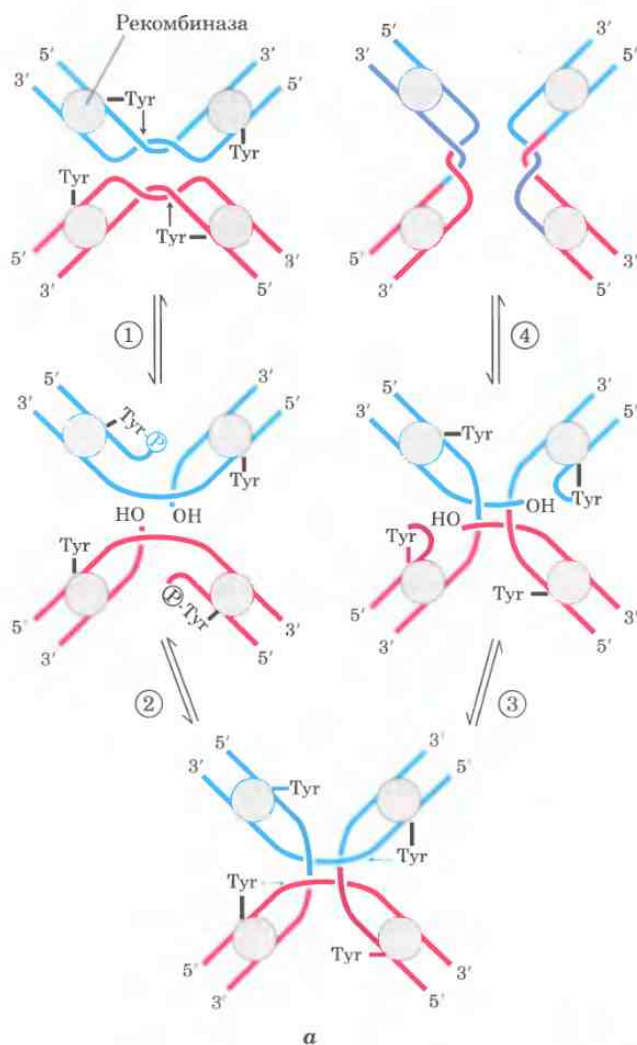


Рис. 25-39. Модели рекомбинационной репарации для восстановления застопорившихся репликативных вилок. Репликативная вилка застопоривается при столкновении с повреждением ДНК (слева) или с разрывом ДНК (справа). Для воссоздания разветвленной структуры ДНК в репликативной вилке необходимы ферменты рекомбинации, облегчающие обмен цепями ДНК. Одноцепочечные разрывы устраняются с помощью белков RecF, RecO и RecR. Двухцепочечные разрывы требуют участия фермента RecBCD. В обоих процессах задействован белок RecA. Промежуточные продукты рекомбинации процессируются благодаря активности дополнительных ферментов (например, для разрешения структур Холлидея нужны белки RuvA, RuvB и RuvC). Повреждения в двухцепочечной ДНК восстанавливаются с помощью эксцизионной репарации нуклеотидов или другими способами. Репликативная вилка перестраивается с привлечением ферментов, катализирующих повторный старт репликации, независимый от точки начала репликации, и репликация хромосомы завершается. Весь процесс требует точной координации всех путей метаболизма бактериальной ДНК.

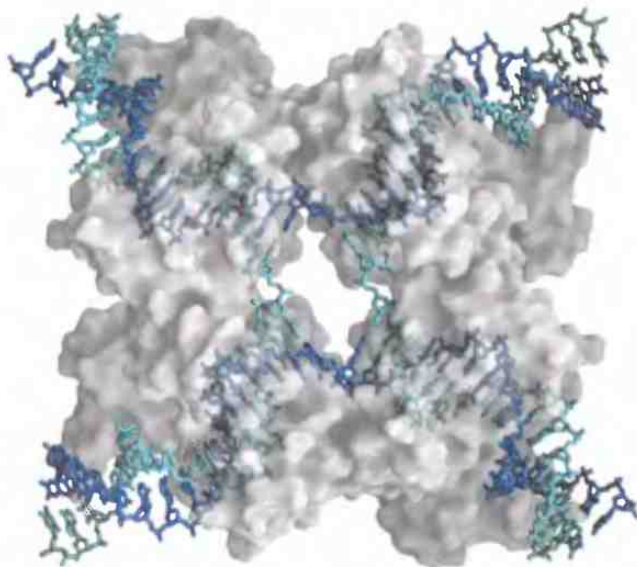
рекомбинации состоит из фермента рекомбиназы и короткой (от 20 до 200 п. н.) уникальной последовательности ДНК, с которой взаимодействует рекомбиназа (сайт рекомбинации). Ход и результат реакции регулирует один или несколько вспомогательных белков.

Существуют два основных класса систем сайт-специфической рекомбинации, различающихся наличием в активном центре ферментов остатков Tyr или Ser. При изучении многих систем сайт-специфической рекомбинации тирозинового класса *in vitro* удалось выявить основные механизмы и общие принципы процесса (рис. 25-40, а). Некоторые из ферментов были получены в кристаллической форме, что позволило детально исследовать их структуру. Выделенная рекомбиназа распознает и связывает каждый из двух сайтов рекомбинации на двух разных молекулах ДНК или в одной и той же ДНК. В каждом сайте одна цепь ДНК расщепляется в специфической точке, после чего реком-



а

Рис. 25-40. Реакция сайт-специфической рекомбинации. а — показанная здесь реакция характерна для сайт-специфических рекомбиназ класса интеграз (названы после открытия интегразы бактериофага λ — первой описанной рекомбиназы). Этот фермент имеет в активном центре остатки Tyr, которые играют роль нуклеофилов. Рекомбиназа представляет собой тетрамер, состоящий из идентичных субъединиц, которые связываются со специфической последовательностью — сайтом рекомбинации. ① Одна цепь каждой молекулы ДНК разрезается в определенных точках этой последовательности. Нуклеофильным агентом является группа $-OH$ остатка тирозина в активном центре, и в результате реакции возникает ковалентная фосфотирозиновая связь между белком и ДНК. ② Расщепленные цепи связываются с новыми партнерами, образуя структуру Холлидея. Завершающие стадии ③ и ④ напоминают две первые. Исходная последовательность сайта рекомбинации восстанавливается после рекомбинации ДНК, фланкирующей сайт. Эти стадии происходят при участии мультисубъединичного комплекса рекомбиназы, а иногда и других, не показанных здесь белков. б — объемная модель четырехсубъединичной Cre-рекомбиназы класса интеграз, связанной с структурой Холлидея (изображена в виде голубых и синих спиралей). Белок изображен прозрачным, чтобы сквозь него была видна ДНК (по PDB ID 3CRX). В активном центре рекомбиназ, относящихся к семейству резолваз-инвертаз, роль нуклеофила исполняет остаток серина.



б

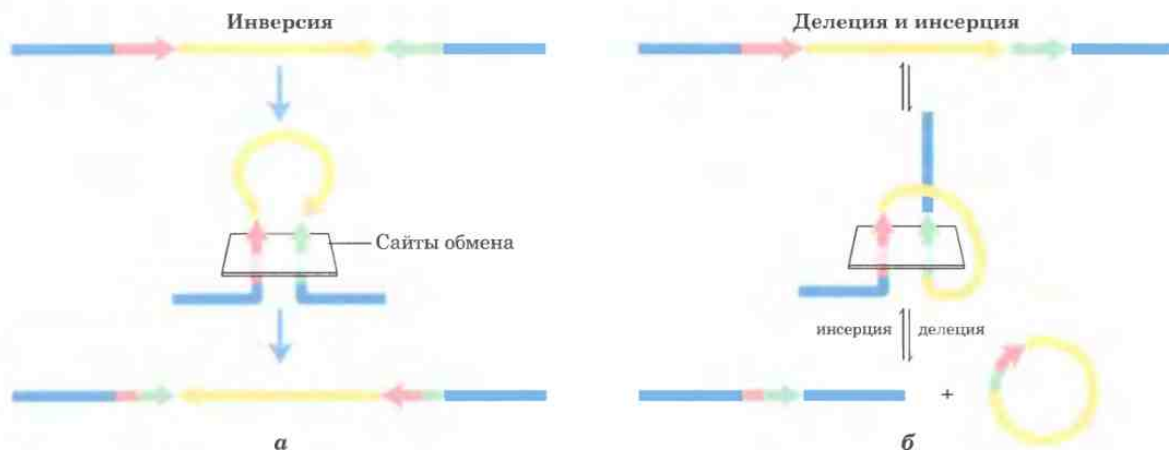


Рис. 25-41. Результат сайт-специфической рекомбинации. Результат сайт-специфической рекомбинации зависит от локализации и ориентации сайтов рекомбинации (красные и зеленые) в молекуле двухцепочечной ДНК. В данном случае под ориентацией (показана стрелками) понимают порядок расположения нуклеотидов в сайте рекомбинации, а не направление 5'→3'. *а* — сайты рекомбинации с противоположной ориентацией в одной и той же молекуле ДНК. В результате происходит инверсия. *б* — сайты рекомбинации с одинаковой ориентацией, расположенные в одной молекуле ДНК (результат — делеция) или в двух молекулах ДНК (результат — инсерция).

биназа ковалентно связывается с ДНК в месте расщепления через фосфотиризиновую связь (стадия ①). Временная связь белок–ДНК сохраняет фосфодиэфирную связь, которая утрачивается при расщеплении ДНК, поэтому на по-

следующих стадиях не требуются богатые энергией кофакторы, такие как АТФ. Расщепленные цепи ДНК соединяются с новыми партнерами с образованием структуры Холлидея, в которой новые фосфодиэфирные связи создаются за счет

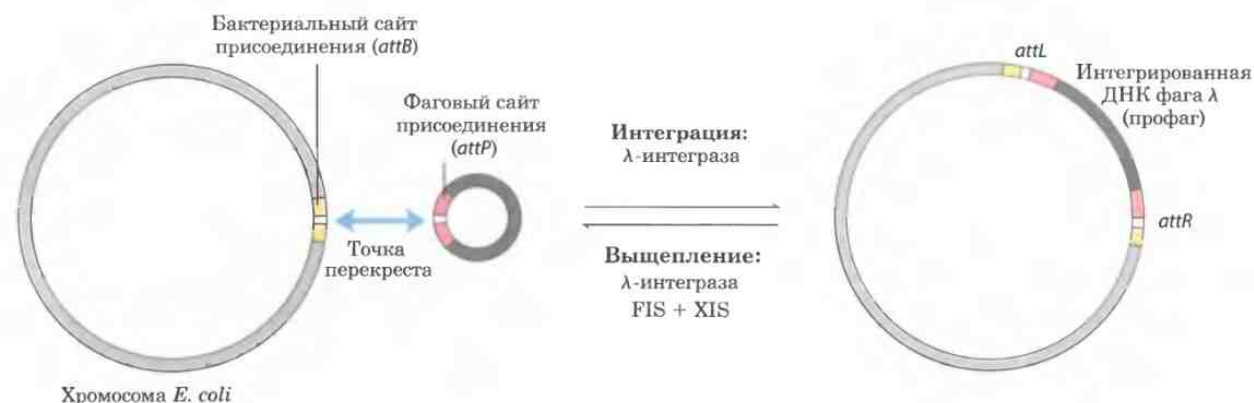


Рис. 25-42. Интеграция и выщепление ДНК бактериофага λ в специфическом сайте хромосомы. Сайт присоединения в ДНК фага λ (*attP*) имеет лишь 15 п. н., полностью гомологичных нуклеотидов в бактериальной ДНК (*attB*) в области перекреста. В результате реакции образуются два новых сайта присоединения (*attR* и *attL*) с двух сторон от интегрированной ДНК фага. Рекомбиназа фага является λ -интегразой (белок INT). Для интеграции и выщепления используются разные сайты присоединения и различные вспомогательные белки. В выщеплении участвуют белки XIS, кодируемые бактериофагом, и белки FIS, кодируемые бактериями. Для обеих реакций нужен белок IHF (от англ. *integration host factor* — клеточный фактор интеграции), кодируемый бактериями.

связи белок–ДНК (стадия ②). Для завершения реакции процесс должен повториться во второй точке в каждом из двух сайтов рекомбинации (стадии ③ и ④). В системах с остатком Ser в активном центре обе цепи в каждом сайте рекомбинации одновременно разрезаются и заново объединяются в новые пары без образования структур Холлидея. Но в обоих случаях обмен всегда обоюдный и точный, и при завершении реакции сайты рекомбинации восстанавливаются. Рекомбиназа, таким образом, выступает в качестве сайт-специфической эндонуклеазы и лигазы одновременно.

Последовательности сайтов рекомбинации, распознаваемые сайт-специфическими рекомбиназами, частично асимметричны (не являются палиндромами); в ходе реакции два сайта рекомбинации выстраиваются в одной и той же ориентации. Результат зависит от локализации и ориентации сайтов рекомбинации (рис. 25-41). Если два сайта находятся в одной и той же молекуле ДНК, реакция либо инвертирует, либо делетирует промежуточную ДНК в зависимости от того, имеют сайты рекомбинации противоположную или одинаковую ориентацию соответственно. Если сайты расположены на разных молекулах ДНК, рекомбинация становится межмолекулярной; если одна или обе ДНК кольцевые, происходит инсерция. Некоторые рекомбиназные системы специфичны для одного из этих типов реакций и действуют только на сайты в определенной ориентации.

Первой исследованной *in vitro* системой сайт-специфической рекомбинации была система, кодируемая бактериофагом λ . Когда ДНК фага λ попадает в клетку *E. coli*, сложная регулируемая последовательность стадий приводит к одному из двух результатов. Либо ДНК фага реплицируется и образует больше бактериофагов (разрушающих клетку хозяина), либо она встраивается в хромосому хозяина (в виде профага) и пассивно реплицируется в составе хромосомы на протяжении многих клеточных поколений. Интеграцию осуществляет кодируемая фагом рекомбиназа (λ -интеграза), которая действует в сайтах рекомбинации в фаговой и бактериальной ДНК — в сайтах присоединения *attP* и *attB* соответственно (рис. 25-42). Роль сайт-специфической рекомбинации в регуляции экспрессии рассматривается в гл. 28.

Для полной репликации хромосомы может потребоваться сайт-специфическая рекомбинация

При рекомбинационной репарации ДНК кольцевой бактериальной хромосомы иногда образуются вредные побочные продукты. При разрешении структуры Холлидея с помощью нуклеазы, например RuvC, и последующем завершении репликации могут образоваться либо две обычные мономерные хромосомы, либо спеленная димерная хромосома (рис. 25-43). В по-

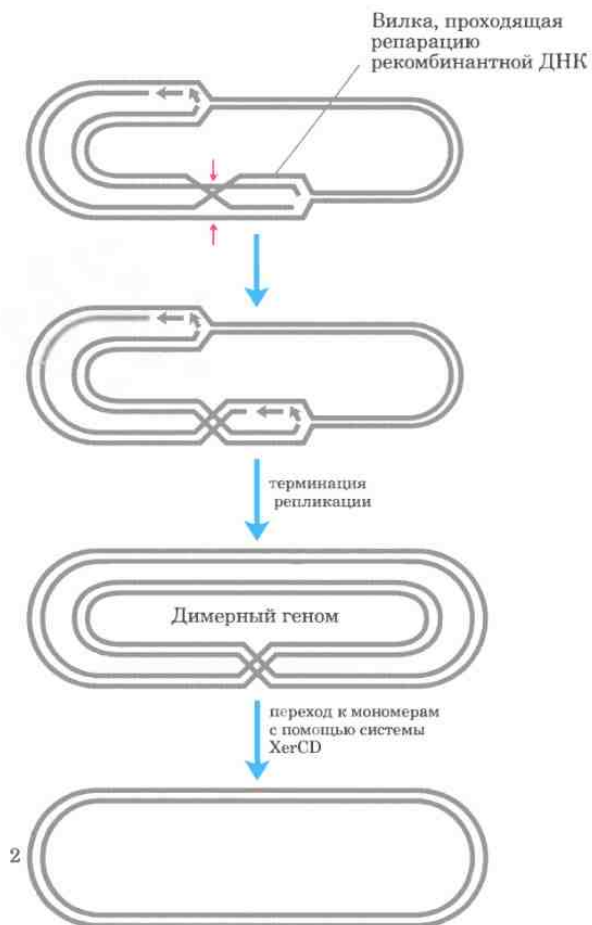


Рис. 25-43. Делеция ДНК для ликвидации опасных последствий рекомбинационной репарации ДНК. Разрешение структуры Холлидея в ходе рекомбинационной репарации ДНК (места расщепления указаны красными стрелками) может приводить к образованию димерной хромосомы. У *E. coli* специализированная сайт-специфическая рекомбиназа XerCD превращает димер в мономеры, способствуя расхождению хромосом и нормальному клеточному делению.

следнем случае ковалентно связанные хромосомы не могут при клеточном делении разойтись в дочерние клетки, и деление клетки блокируется на этой стадии цикла. У *E. coli* существует специальная система сайт-специфической рекомбинации XerCD, которая превращает димерные хромосомы в мономерные и обеспечивает нормальное клеточное деление. Эта сайт-специфическая делеция (рис. 25-41, б) является еще одним примером тесной связи между рекомбинацией ДНК и другими процессами метаболизма ДНК.

Подвижные генетические элементы перемещаются из одного участка ДНК в другой

Теперь рассмотрим третий важный тип рекомбинации, при котором происходит перенос подвижных элементов, или **транспозонов**. Эти участки ДНК, обнаруженные практически во всех клетках, движутся или «прыгают» из одной точки хромосомы (донорский сайт) в другую точку на той же или другой хромосоме (целевой сайт). Гомология последовательностей ДНК не обязательное условие для этого перемещения, называемого **транспозицией**; новое расположение транспозона определяется более или менее случайно. Встраивание транспозона в ген может привести к гибели клетки, поэтому транспозиция жестко регулируется и обычно происходит очень редко. Вероятно, транспозоны — самые простые молекулярные паразиты, которые приспособились к пассивной репликации в хромосомах клеток хозяина. В некоторых случаях они несут гены, полезные для клетки хозяина, и, таким образом, существуют в симбиотической связи с ней.

У бактерий есть два класса транспозонов. **Инсерционные последовательности (IS-элементы** или простые транспозоны) содержат только последовательности, необходимые для транспозиции, и гены белков (транспозаз), которые осуществляют этот процесс. **Сложные транспозоны** содержат один или несколько дополнительных генов помимо тех, которые необходимы для транспозиции. Эти избыточные гены могут, например, отвечать за устойчивость к антибиотикам и тем самым повышать вероятность выживания клетки хозяина. Транспозиция — одна из причин распространения устойчивости к антибиотикам в популяциях бактерий, вызывающих болезни, в результате чего

применение некоторых антибиотиков становится неэффективным (с. 10). ■

Бактериальные транспозоны различны по структуре, но большинство на каждом конце содержит короткие повторы, которые связывают транспозазы. При транспозиции короткая последовательность в целевом сайте (от 5 до 10 п. н.) удваивается с образованием дополнительного короткого повтора, который фланкирует встроенный транспозон с двух сторон (рис. 25-44). Эти повторы образуются благодаря расщеплению нуклеотидной последовательности и встраиванию транспозона на новом месте.

У бактерий существуют два основных пути транспозиции. При прямой (простой) транспозиции (рис. 25-45, слева) расщепление ДНК с двух сторон от транспозона приводит к его вырезанию, и транспозон перемещается на новое место. В ДНК донора остается двухцепочечный разрыв, который должен быть ликвидирован. В целевом сайте производится ступенчатый раз-

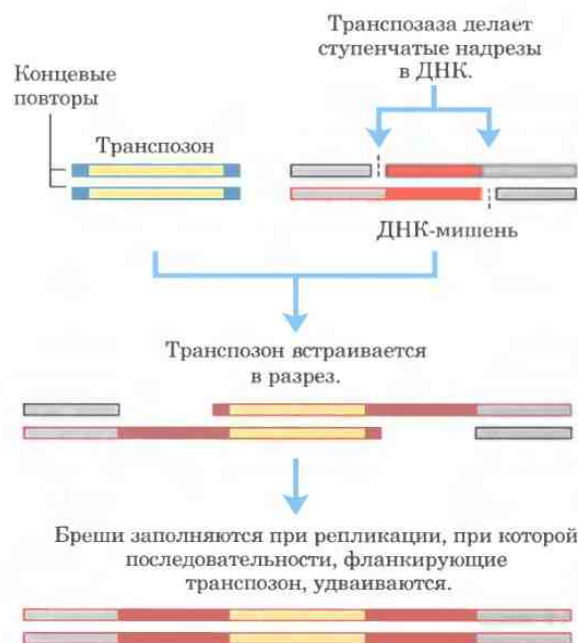


Рис. 25-44. Удвоение последовательности ДНК в целевом участке при встраивании транспозона. Удвоенные после встраивания транспозона последовательности показаны красным цветом. Обычно эти последовательности содержат только несколько пар оснований, здесь их размер сильно увеличен по сравнению с размером типичного транспозона.

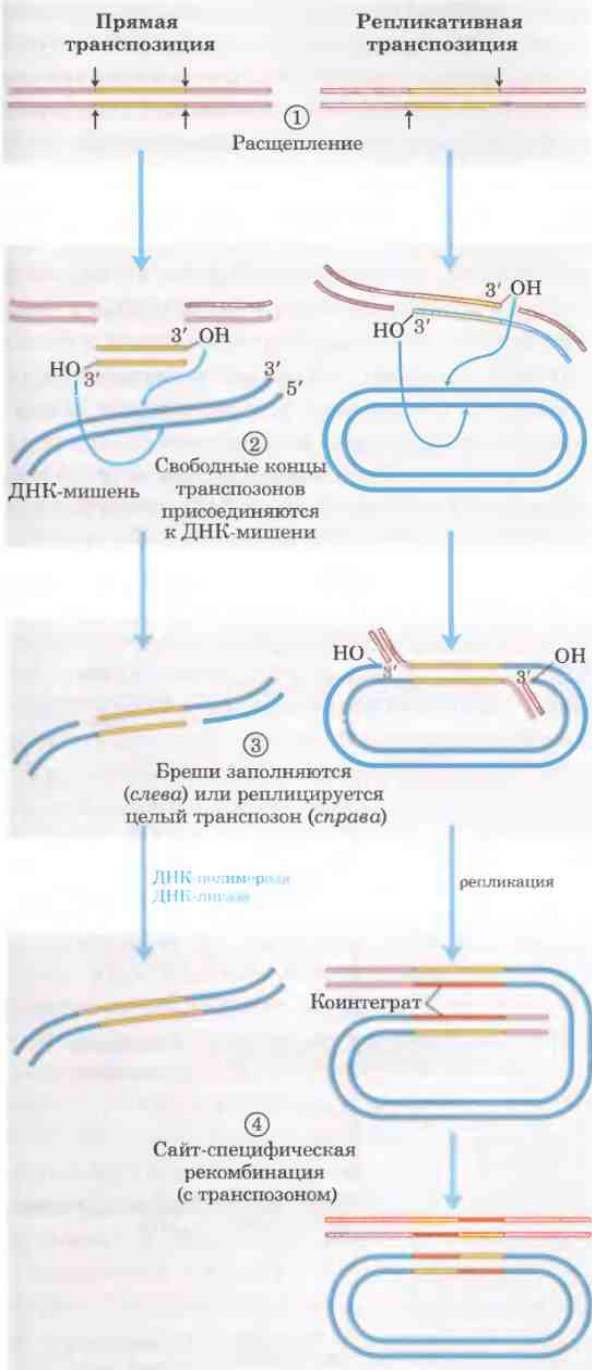


Рис. 25-45. Два основных способа транспозиции: прямой (простой) и репликативный. ① Сначала происходит расщепление ДНК с каждой стороны от транспозона (стрелки). ② Освободившиеся 3'-гидроксильные группы на концах транспозона действуют как нуклеофилы, напрямую атакуя фосфодиэфирные связи в ДНК-мишени. Эти фосфодиэфирные связи располагаются в двух цепях ДНК ступенчато (не непосредственно друг под другом). ③ Транспозон связывается с ДНК-мишенью. При прямой транспозиции (слева) репликация заполняет бреши на каждом конце. При репликативной транспозиции (справа) реплицируется весь транспозон, и образуется коинтегра́т. ④ Коинтегра́т часто разрушается позднее с помощью особой системы сайт-специфической рекомбинации. Хозяйская ДНК, оставшаяся расщепленной после прямой транспозиции, либо восстанавливается путем соединения концов ДНК, либо разрушается (не показано). В последнем случае последствия могут быть летальными для организма.

в составе которой имеется донор, ковалентно связанный с ДНК в целевом сайте, называется **коинтегра́том**. В коинтегра́те содержатся две полные копии транспозона в одинаковой ориентации. В случае некоторых хорошо изученных транспозонов промежуточное коинтегра́тное соединение превращается в продукты путем сайт-специфической рекомбинации, при которой делецию осуществляют специализированные рекомбиназы.

У эукариот тоже есть транспозоны, которые по структуре напоминают бактериальные транспозоны, и некоторые из них используют похожий механизм транспозиции. Однако в других случаях в качестве посредников в транспозиции участвует РНК. Эволюция таких транспозонов имеет много общего с эволюцией определенных классов РНК-вирусов. И те, и другие подробнее рассматриваются в следующей главе.

Сборка генов иммуноглобулинов происходит путем рекомбинации

Некоторые перегруппировки ДНК запрограммированы в развитии эукариотических организмов. Важный пример — сборка полных генов иммуноглобулинов из отдельных сегментов в геномах позвоночных. Человек, как и другие млекопитающие, способен производить *миллионы* различных

рез (как на рис. 25-44), в который встраивается транспозон, а бреши заполняются в процессе репликации, что приводит к удвоению последовательности целевого сайта. При репликативной транспозиции (рис. 25-45, *справа*) реплицируется целый транспозон, оставляя в ДНК донора одну свою копию. Промежуточная структура,

иммуноглобулинов (антител) с разной специфичностью, несмотря на то что геном человека содержит лишь около 29 000 генов. Рекомбинация позволяет организму образовывать необыкновенное разнообразие антител при ограниченных возможностях ДНК в кодировании информации. При исследовании механизмов рекомбинации была выявлена ее тесная связь с транспозицией ДНК; возможно, эта система обеспечения разнообразия антител возникла в глубокой древности как результат проникновения в клетки транспозонов.

Рассмотрим механизм создания разнообразных антител на примере человеческих генов, кодирующих иммуноглобулины G (IgG). Иммуноглобулины состоят из двух тяжелых и двух легких полипептидных цепей (см. рис. 5-21 в т. 1). Каждая цепь содержит две области: варибель-

ную с последовательностью, которая значительно отличается от одного иммуноглобулина к другому, и константную, фактически постоянную для данного класса иммуноглобулинов. Существуют также два разных семейства легких цепей — κ - и λ -, которые несколько различаются последовательностями константных областей. Разнообразие варибельных областей всех трех типов по липептидной цепи (тяжелой цепи, легких κ - и λ -цепей) возникает по схожему механизму. Гены этих полипептидов делятся на сегменты, а геном содержит кластеры с множеством версий каждого сегмента. Соединение по одной версии каждого из сегментов создает полный ген.

На рис. 25-46 показана организация ДНК, кодирующей легкие κ -цепи IgG человека; механизм образования зрелой легкой κ -цепи объ-

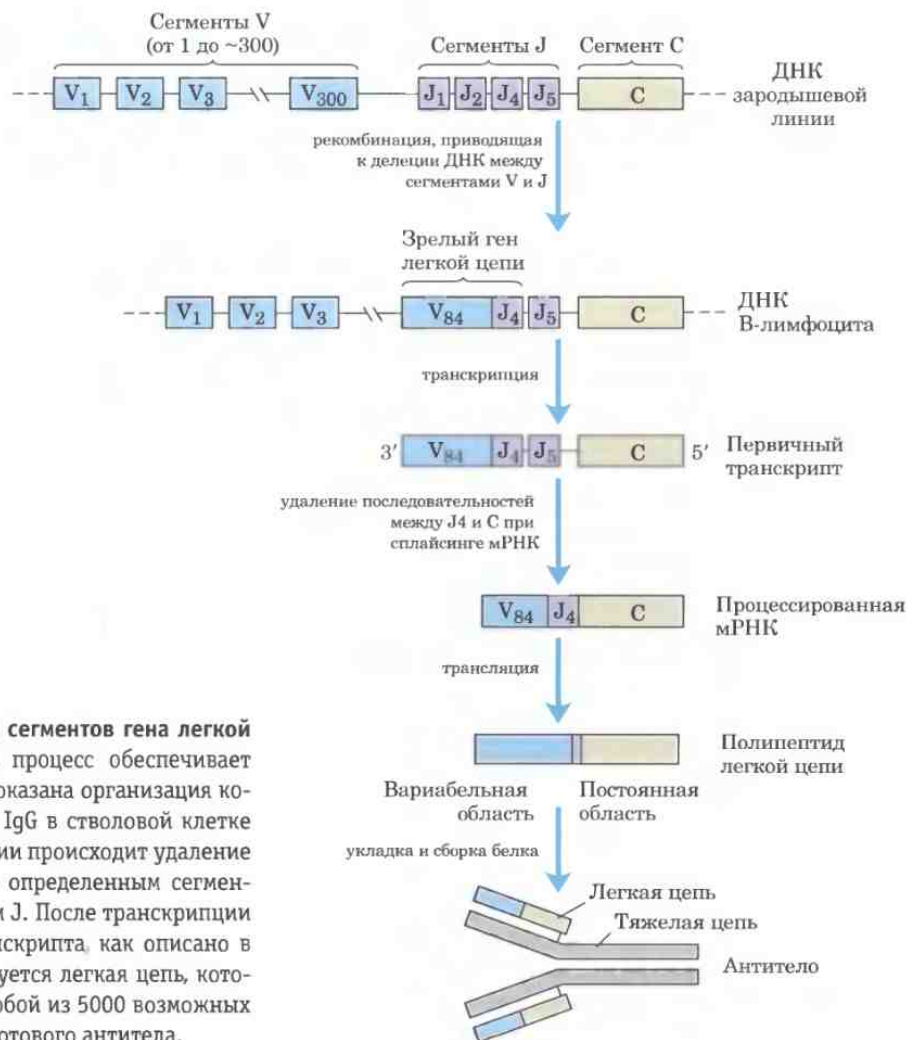


Рис. 25-46. Рекомбинация V и J сегментов гена легкой κ -цепи IgG человека. Данный процесс обеспечивает разнообразие антител. Вверху показана организация кодирующих последовательностей IgG в стволовой клетке костного мозга. При рекомбинации происходит удаление последовательности ДНК между определенным сегментом V и определенным сегментом J. После транскрипции происходит сплайсинг РНК-транскрипта, как описано в гл. 26. В ходе трансляции образуется легкая цепь, которая может комбинироваться с любой из 5000 возможных тяжелых цепей с образованием готового антитела.

ясняется именно организацией ДНК. В недифференцированных клетках информация об этой полипептидной цепи разделена на три сегмента. Сегмент V (вариабельный) кодирует первые 95 аминокислотных остатков вариабельной области, сегмент J (соединяющий) кодирует оставшиеся 12 остатков вариабельной области, а сегмент C кодирует константную область. Геном содержит примерно 300 вариантов сегмента V, четыре варианта сегмента J и один сегмент C.

После дифференцировки стволовой клетки костного мозга в зрелый В-лимфоцит один сегмент V и один сегмент J соединяются с помощью специальной системы рекомбинации (рис. 25-46). В ходе этой запрограммированной делеции вся промежуточная ДНК отбрасывается. Существует примерно $300 \cdot 4 = 1200$ возможных комбинаций V–J. Процесс рекомбинации не так точен, как описанная выше сайт-специфическая рекомбинация, поэтому место соединения сегментов V и J может служить источником дополнительной вариабельности последовательности. Это увеличивает число возможных вариантов примерно в 2,5 раза, поэтому клетки могут образовывать примерно $2,5 \cdot 1200 = 3000$ различных комбинаций сегментов V–J. Наконец, после транскрипции процесс сплайсинга РНК приводит к соединению области V–J с областью C (эти процессы описаны в гл. 26).

Механизм рекомбинации при соединении сегментов V и J показан на рис. 25-47. Непосредственно после каждого сегмента V и непосредственно перед каждым сегментом J находятся сигнальные последовательности рекомбинации (RSS; от англ. *recombination signal sequences*), с которыми связаны белки RAG1 и RAG2 (от англ. *recombination activating gene*). Белки RAG катализируют образование двухцепочечного разрыва между сигнальными последовательностями и сегментами V (или J), которые должны соединиться. Сегменты V и J затем соединяются с помощью второго комплекса белков.

Гены тяжелых цепей и легких λ -цепей образуются в аналогичных процессах. Для тяжелых цепей существует больше генных сегментов, чем для легких цепей, и для них возможно более 5000 комбинаций. Поскольку при образовании иммуноглобулина любая тяжелая цепь может комбинироваться с любой легкой цепью, у каждого человека может быть по меньшей мере $3000 \cdot 5000 = 1,5 \cdot 10^7$ различных IgG. Дополнительное разнообразие

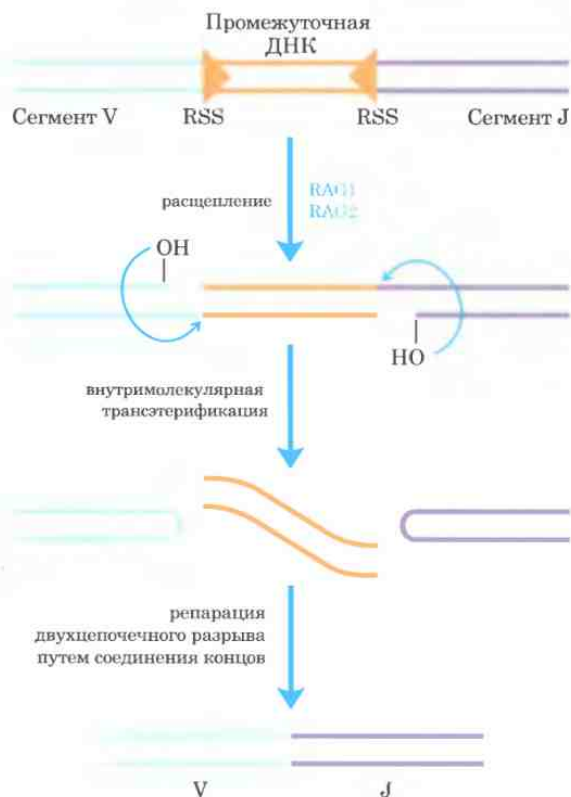


Рис. 25-47. Механизм перестройки гена иммуноглобулина. Белки RAG1 и RAG2 связываются с сигнальными последовательностями рекомбинации (RSS) и расщепляют одну цепь ДНК между RSS и сегментами V (или J), которые будут впоследствии соединены. После этого высвобожденная 3'-гидроксильная группа действует в качестве нуклеофила, атакует фосфодиэфирную связь в другой цепи и создает двухцепочечный разрыв. Образующиеся шпильки в области сегментов V и J расщепляются, а их концы ковалентно связываются комплексом белков, специализирующихся на репарации путем соединения концов в двухцепочечных разрывах. Стадии образования двухцепочечного разрыва, катализируемые RAG1 и RAG2, напоминают стадии реакций транспозиции.

возникает из-за высокой частоты мутаций (механизм неизвестен) генов V-сегментов в ходе дифференцировки В-лимфоцитов. Каждый зрелый В-лимфоцит образует антитела только одного типа, но набор антител, образуемых разными клетками, очень большой.

Действительно ли иммунная система отчасти происходит от древних транспозонов? Механизм образования двухцепочечных разрывов с помощью RAG1 и RAG2 на самом деле идентичен нескольким стадиям транспозиции (рис. 25-47). Кроме того, вы-

резаемая ДНК с RSS на концах имеет структуру, обнаруженную в большинстве транспозонов. В эксперименте *in vitro* белки RAG1 и RAG2 могут взаимодействовать с этой вырезанной ДНК и встраивать ее, как транспозон, в другие молекулы ДНК (в В-лимфоцитах эта реакция, вероятно, происходит довольно редко). Мы не знаем точно, но система перестройки генов иммуноглобулинов, возможно, является результатом эволюционного процесса, уничтожившего различия между паразитом и хозяином.

Краткое содержание раздела 25.3

РЕКОМБИНАЦИЯ ДНК

- Последовательности ДНК подвергаются перестройкам в реакциях рекомбинации, которые обычно четко координированы с репликацией или репарацией ДНК.
- Гомологичная генетическая рекомбинация может происходить между любыми двумя молекулами ДНК с гомологичными последовательностями. При мейозе (у эукариот) этот тип рекомбинации помогает обеспечить правильное расхождение хромосом и увеличить генетическое разнообразие. И у бактерий, и у эукариот рекомбинация служит для восстановления заблокированных репликативных вилок. В процессе гомологичной рекомбинации формируется промежуточная структура Холлидея.
- Сайт-специфическая рекомбинация происходит только на специфических последовательностях и может протекать также через образование структуры Холлидея. Рекомбиназы расщепляют ДНК в специфических точках и связывают цепи с новыми партнерами. Этот тип рекомбинации обнаружен практически во всех клетках; к его многочисленным функциям относятся в том числе интеграция ДНК и регуляция экспрессии.

- Транспозоны, существующие практически во всех клетках, передвигаются внутри или между хромосомами посредством рекомбинации. У позвоночных с помощью запрограммированной рекомбинации, напоминающей транспозицию, происходит соединение сегментов генов иммуноглобулинов в ходе дифференцировки В-лимфоцитов.

Ключевые термины

Термины, выделенные жирным шрифтом, объясняются в глоссарии.

AAA+ АТРазы 56	Модель репарации двуцепочечного разрыва 84
АР-сайт 71	Мутация 67
АР-эндонуклеазы 68	Нуклеазы 48
MCM-комплекс 64	Отстающая цепь 48
ORC-комплекс (комплекс распознавания точки инициации репликации) 64	Подверженный ошибкам синтез ДНК через повреждение 76
SOS-ответ 76	Полуконсервативная репликация 45
Гомологичная генетическая рекомбинация 81	Праймазы 55
ДНК-гликозилазы 68. 71	Праймер 50
ДНК-лигазы 55	Праймосома 59
ДНК-полимераза I 49	Пререпликативный комплекс (pre-RC) 64
ДНК-полимераза III 52	Процессивность 50
ДНК-полимераза α 54	Рекомбинационная репарация ДНК 81
ДНК-полимераза δ 54	Репликативная вилка 47
ДНК-полимераза ϵ 54	Реплисома 54
ДНК-расплетающий элемент (DUE) 56	Сайт-специфическая рекомбинация 81
ДНК-транспозиция 81	Структура Холлидея 85
ДНК-фотолиаза 74	Топоизомеразы 54
Инсерционная последовательность 94	Точка инициации репликации (ориджин) 48
Катенаны 63	Транспозиция 81
Коинтегра́т 95	Транспозоны 94
Коррекция 52	Фрагменты Оказаки 48
Лидирующая цепь 48	Хеликазы 54
Лицензирование 64	Экзонуклеаза 48
Матрица 45	Экцизионная репарация оснований 81
Мейоз 82	Эндонуклеаза 48
Миграция ветви 85	

Дополнительная литература для дальнейшего изучения

Общая литература

Friedberg, E. C., Walker, G. C., Siede, W., Wood, R. D., Schultz, R. A., & Ellenberger, T. (2006) *DNA Repair and Mutagenesis*, 2nd edn, American Society for Microbiology, Washington, DC.

Всестороннее исследование метаболизма ДНК и хорошая отправная точка для начала экспериментирования в этой области.

Kornberg, A. & Baker, T. A. (1991) *DNA Replication*, 2nd edn, W. H. Freeman and Company, New York.

Прекрасный источник информации по всем аспектам метаболизма ДНК.

Репликация ДНК

Benkovic, S. J., Valentine, A. M., & Salinas, F. (2001) Replisome-mediated DNA replication. *Annu. Rev. Biochem.* **70**, 181–208.

В обзоре описаны схожие механизмы и ферменты репликации ДНК в разных классах организмов.

Bloom, L. B. (2006) Dynamics of loading the *Escherichia coli* DNA polymerase processivity clamp. *Crit. Rev. Biochem. Mol. Biol.* **41**, 179–208.

Frick, D. N. & Richardson, C. C. (2001) DNA primases. *Annu. Rev. Biochem.* **70**, 39–80.

Heller, R. C. & Marians, K. J. (2006) Replisome assembly and the direct restart of stalled replication forks. *Nat. Rev. Mol. Cell Biol.* **7**, 932–943.

Механизмы перезапуска репликативной вилки до репарации повреждения в ДНК.

Hübscher, U., Maga, G., & Spadari, S. (2002) Eukaryotic DNA polymerases. *Annu. Rev. Biochem.* **71**, 133–163.

Обзор свойств и функций более десяти известных ДНК-полимераз эукариот.

Indiani, C. & O'Donnell, M. (2006) The replication clamp-loading machine at work in the three domains of life. *Nat. Rev. Mol. Cell Biol.* **7**, 751–761.

Kamada, K., Horiuchi, T., Ohsumi, K., Shimamoto, N., & Morikawa, K. (1996) Structure of a replication-terminator protein complexed with DNA. *Nature* **383**, 598–603.

О структуре комплекса Tus–Ter.

Kool, E. T. (2002) Active site tightness and substrate fit in DNA replication. *Annu. Rev. Biochem.* **71**, 191–219.

Прекрасный обзор, посвященный молекулярным основам точности ДНК-полимеразы — геометрии пар оснований и образованию водородных связей.

O'Donnell, M. (2006) Replisome architecture and dynamics in *Escherichia coli*. *J. Biol. Chem.* **281**, 10,653–10,656.

Очень хороший обзор реакций в репликативной вилке.

Stillman, B. (2005) Origin recognition and the chromosome cycle. *FEBS Lett.* **579**, 877–884.

Хороший обзор по инициации репликации ДНК у эукариот.

Репарация ДНК

Begley, T. J. & Samson, L. D. (2003) AlkB mystery solved: oxidative demethylation of N1-methyladenine and N3-methylcytosine adducts by a direct reversal mechanism. *Trends Biochem. Sci.* **28**, 2–5.

Erzberger, J. P. & Berger, J. M. (2006) Evolutionary relationships and structural mechanisms of AAA+ proteins. *Annu. Rev. Biophys. Biomol. Struct.* **35**, 93–114.

Friedberg, E. C., Fischhaber, P. L., & Kisker, C. (2001) Error-prone DNA polymerases: novel structures and the benefits of infidelity. *Cell* **107**, 9–12.

Goodman, M. F. (2002) Error-prone repair DNA polymerases in prokaryotes and eukaryotes. *Annu. Rev. Biochem.* **71**, 17–50.

Обзор свойств ДНК-полимераз, число которых продолжает расти.

Kunkel, T. A. & Erie, D. A. (2005) DNA mismatch repair. *Annu. Rev. Biochem.* **74**, 681–710.

Lindahl, T. & Wood, R. D. (1999) Quality control by DNA repair. *Science* **286**, 1897–1905.

Marnett, L. J. & Plataras, J. P. (2001) Endogenous DNA damage and mutation. *Trends Genet.* **17**, 214–221.

Sancar, A. (1996) DNA excision repair. *Annu. Rev. Biochem.* **65**, 43–81.

Sutton, M. D., Smith, B. T., Godoy, V. G., & Walker, G. C. (2000) The SOS response: recent insights into umuDC-dependent mutagenesis and DNA damage tolerance. *Annu. Rev. Genet.* **34**, 479–497.

Wilson, D. M. III & Bohr, V. A. (2007) The mechanics of base excision repair, and its relation to aging and disease. *DNA Repair* **6**, 544–559.

Wood, R. D., Mitchell, M., Sgouros, J., & Lindahl, T. (2001) Human DNA repair genes. *Science* **291**, 1284–1289.

Что расшифровка генома человека позволила узнать о репарации ДНК.

Рекombинация ДНК

Cox, M. M. (2001) Historical overview: searching for replication help in all of the rec places. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* **98**, 8173–8180.

О том, как было показано, что рекомбинация участвует в репарации репликативной вилки.

Cox, M. M. (2007) Regulation of bacterial RecA protein function. *Crit. Rev. Biochem. Mol. Biol.* **42**, 41–63.

Craig, N. L. (1995) Unity in transposition reactions. *Science* **270**, 253–254.

Gellert, M. (2002) V(D)J recombination: RAG proteins, repair factors, and regulation. *Annu. Rev. Biochem.* **71**, 101–132.

Grindley, N. D. F., Whiteson, K. L., & Rice, P. A. (2006) Mechanisms of site-specific recombination. *Annu. Rev. Biochem.* **75**, 567–605.

Hallet, B. & Sherratt, D. J. (1997) Transposition and site-specific recombination: adapting DNA cut-and-paste mecha-

nisms to a variety of genetic rearrangements. *FEMS Microbiol. Rev.* **21**, 157–178.

Haniford, D. B. (2006) Transpososome dynamics and regulation in Tn10 transposition. *Crit. Rev. Biochem. Mol. Biol.* **41**, 407–424.

Детальное описание одного из хорошо исследованных бактериальных транспозонов.

Lusetti, S. L. & Cox, M. M. (2002) The bacterial RecA protein and the recombinational DNA repair of stalled replication forks. *Annu. Rev. Biochem.* **71**, 71–100.

Pâques, F. & Haber, J. E. (1999) Multiple pathways of recombination induced by double-strand breaks in *Saccharomyces cerevisiae*. *Microbiol. Mol. Biol. Rev.* **63**, 349–404.

Singleton, M. R., Dillingham, M. S., Gaudier, M., Kowalczykowski, S. C., & Wigley, D. B. (2004) Crystal structure of RecBCD enzyme reveals a machine for processing DNA breaks. *Nature* **432**, 187–193.

Van Duyne, G. D. (2001) A structural view of Cre-loxP site-specific recombination. *Annu. Rev. Biophys. Biomol. Struct.* **30**, 87–104.

Удачный структурный анализ системы сайт-специфической рекомбинации.

Вопросы и задачи

1. Выводы из эксперимента Мезельсона–Сталя. Эксперимент Мезельсона–Сталя (рис. 25-2) доказывает, что ДНК в клетках *E. coli* претерпевает полуконсервативную репликацию. В «дисперсионной» модели репликации цепи родительской ДНК расщепляются на участки случайной длины, затем связываются с фрагментами заново реплицированной ДНК, что приводит к образованию дуплексов. Объясните, почему результаты эксперимента Мезельсона и Сталя исключают такую модель.

2. Анализ репликации ДНК с помощью тяжелых изотопов. Культуру *E. coli*, растущую на среде с $^{15}\text{NH}_4\text{Cl}$, переносят на среду, содержащую $^{14}\text{NH}_4\text{Cl}$, где клетки делятся три раза (т. е. численность клеток возрастает в восемь раз). Каково молярное соотношение гибридной ДНК (^{15}N – ^{14}N) к легкой ДНК (^{14}N – ^{14}N) в образовавшейся культуре?

3. Репликация хромосомы *E. coli*. Хромосома *E. coli* содержит 4 639 221 п. н.

а) Сколько витков двойной спирали раскручивается при репликации хромосомы *E. coli*?

б) Исходя из сведений, представленных в данной главе, определите, сколько времени требуется для репликации хромосомы *E. coli* при 37 °C, если две репликативные вилки начинают движение в точке начала репликации? Допустим, что скорость репликации составляет 1000 п. н./с. В этих условиях клетки *E. coli* делятся каждые 20 мин. Возможно ли это?

в) Сколько (примерно) фрагментов Оказаки образуется при репликации хромосомы *E. coli*? Какие факторы гарантируют правильную сборку многочисленных фрагментов Оказаки в новую ДНК?

4. Состав оснований ДНК, образованных на одноцепочечных матрицах. Оцените состав оснований всей ДНК, синтезированной ДНК-полимеразой на матрицах из эквимольной смеси двух комплементарных цепей бактериофага ϕX174 (кольцевые молекулы ДНК). Состав оснований одной цепи: А – 24,7%; G – 24,1%; C – 18,5%; T – 32,7%. Какое допущение необходимо сделать, чтобы ответить на этот вопрос?

5. Репликация ДНК. Кориберг с коллегами инкубировали растворимые экстракты *E. coli* со смесью dATP, dTTP, dGTP и dCTP, меченных ^{32}P по α -фосфатным группам. Через некоторое время инкубационную смесь обрабатывали трихлоруксусной кислотой, которая осаждает ДНК, но не осаждает нуклеотиды-предшественники. Осадок собирали и по количеству радиоактивной метки в осадке определяли количество предшественников, встроившихся в ДНК.

а) Если из инкубационной смеси удалить один из четырех предшественников, будет ли радиоактивная метка обнаружена в осадке? Поясните ответ.

б) Может ли ^{32}P включаться в состав ДНК, если метку содержит только dTTP? Поясните ответ.

в) Будет ли обнаружена радиоактивность в осадке, если метку ^{32}P включать в β - или γ -фосфатные, а не в α -фосфатные группы? Поясните.

6. Химия репликации ДНК. Все ДНК-полимеразы синтезируют новую цепь ДНК в направлении $5' \rightarrow 3'$. В определенном смысле репликация антипараллельных цепей ДНК-дуплекса была бы проще при наличии второго типа полимераз, способных синтезировать ДНК в направлении $3' \rightarrow 5'$. В принципе два типа полимераз могли бы координировать синтез ДНК без тех сложных механизмов, которые требуются для репликации отстающей цепи. Однако таких $3' \rightarrow 5'$ синтезирующих ферментов не обнаружено. Предложите два возможных механизма синтеза ДНК в направлении $3' \rightarrow 5'$. Одним из продуктов в обоих случаях был бы пирофосфат. Осуществимы ли эти механизмы в клетке? Почему да или почему нет? (*Подсказка.* Можете предположить существование предшественников ДНК, которых нет в современных клетках.)

7. Лидирующая и отстающая цепи. Составьте таблицу, в которой сравните репликацию лидирующей и отстающей цепей ДНК у *E. coli*. Перечислите названия и функции предшественников, ферментов и других необходимых белков.

8. Функция ДНК-лигазы. Некоторые мутанты *E. coli* содержат дефектную ДНК-лигазу. Если такие мутанты обработать ^3H -меченым тимидином и осадить полученную ДНК в градиенте плотности щелочной сахарозы, появляются две радиоактивные полосы. Одна соответствует высокомолекулярной фракции, другая — низкомолекулярной фракции. Объясните эти данные.

9. Точность репликации ДНК. Какие факторы увеличивают точность репликации во время синтеза лидирующей цепи ДНК? Можно ли ожидать, что отстающая цепь будет образовываться с такой же точностью. Поясните свой ответ.

10. Важная роль ДНК-топоизомераз в репликации ДНК. Раскручивание ДНК, например, при репликации влияет на плотность сверхспирализации ДНК. В отсутствие топоизомераз ДНК перед репликативной вилкой была

бы перекручена, поскольку позади вилки ДНК раскручена. Бактериальная репликативная вилка останавливается, когда плотность сверхспирализации (σ) ДНК перед вилкой достигает величины $+0,14$ (см. гл. 24).

Двунаправленная репликация плазмиды размером 6000 п. н. в условиях *in vitro* инициируется в точке начала репликации без участия топоизомераз. До начала репликации $\sigma = -0,06$. Сколько пар оснований раскрутит и реплицирует каждая репликативная вилка до остановки? Считайте, что все вилки движутся с одинаковой скоростью и имеют все необходимое для элонгации, кроме топоизомеразы.

11. Тест Эймса. На тонкий слой агаризованной питательной среды, в которой отсутствовал гистидин, выселили примерно 10^9 бактерий *Salmonella typhimurium*, ауксотрофных по гистидину (мутантные клетки, которые нуждаются в гистидине для выживания), и через двое суток инкубации при 37°C получили примерно 13 колоний (рис. 25-21). Как могли появиться колонии на среде без гистидина? Эксперимент повторили в присутствии 0,4 мкг 2-аминоантрацена. Через двое суток образовалось более 10 000 колоний. Какой вывод можно сделать о свойствах 2-аминоантрацена? Что можно сказать о канцерогенности этого вещества?

12. Механизмы репарации ДНК. Клетки позвоночных и растений часто метилируют цитозин в ДНК с образованием 5-метилцитозина (см. рис. 8-5, а). В тех же клетках специализированная система репарации распознает ошибочные пары G-T и заменяет их парой G=C. Какую пользу клетке приносит такая система репарации? (Объясните, учитывая роль 5-метилцитозина в ДНК).

 **13. Репарация ДНК у людей с пигментной ксеродермой.** Пигментная ксеродерма (XP) возникает в результате мутаций по меньшей мере в семи разных генах человека. Нарушения обычно затрагивают гены, кодирующие ферменты эксцизионной репарации нуклеотидов. Существует несколько типов заболевания, которые обозначают буквами от А до G (ХРА, ХРВ и т. д.), и отдельный тип XPV.

Культуры фибробластов здоровых людей и больных ХР облучали УФ-светом. ДНК выделяли и денатурировали, а полученные одноцепочечные молекулы ДНК анализировали путем ультрацентрифугирования.

а) В образцах нормальных фибробластов после облучения существенно снижена средняя молекулярная масса одноцепочечных молекул ДНК, а в образцах фибробластов пациентов с ХРГ такого снижения не наблюдается. Почему?

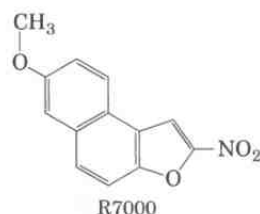
б) Если считать, что в фибробластах действует система эксцизионной репарации нуклеотидов, какой этап нарушен в фибробластах пациентов с ХРГ? Объясните.

14. Структуры Холлидея. Чем образование структур Холлидея при гомологичной генетической рекомбинации отличается от их образования при сайт-специфической рекомбинации?

15. Связь между репликацией и сайт-специфической рекомбинацией. Большинство диких штаммов *Saccharomyces cerevisiae* несет множество копий кольцевой плазмиды 2 μ (названной так из-за того, что длина ее окружности составляет около 2 мкм), состоящей из ~6300 п. н. Плазмида использует хозяйскую систему репликации, причем реплицируется под тем же строгим контролем, что и хозяйская хромосома, всего один раз за клеточный цикл. Репликация плазмиды идет в двух направлениях, а обе репликативные вилки возникают в одной и той же хорошо изученной точке начала репликации. Однако один цикл репликации плазмиды 2 μ может привести к образованию более чем двух копий плазмиды, что способствует увеличению копиности плазмиды (увеличивается число копий плазмиды в одной клетке), чтобы при расхождении плазмид в ходе деления клетки ни одна из дочерних клеток не получила меньше копий плазмиды, чем должно быть в норме. Для амплификации требуется система сайт-специфической рекомбинации, закодированная в плазмиде, которая позволяет перевернуть одну часть плазмиды по отношению к другой части. Объясните, каким образом сайт-специфическая инверсия может приводить к увеличению копиности плазмиды. (Подсказка. Рассмотрите ситуацию, когда репликативные вилки удваивают только один из двух сайтов рекомбинации.)

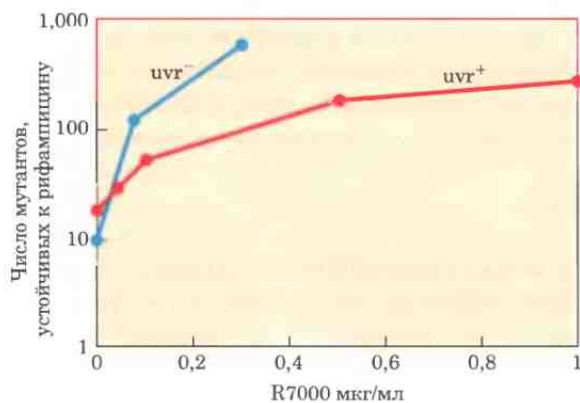
Анализ экспериментальных данных

16. Мутагенез в клетках *Escherichia coli*. Многие мутагенные соединения действуют путем алкилирования оснований ДНК. Алкилирующий агент R7000 (7-метокси-2-нитронафто[2,1-*b*]фуран) – очень мощный мутаген.



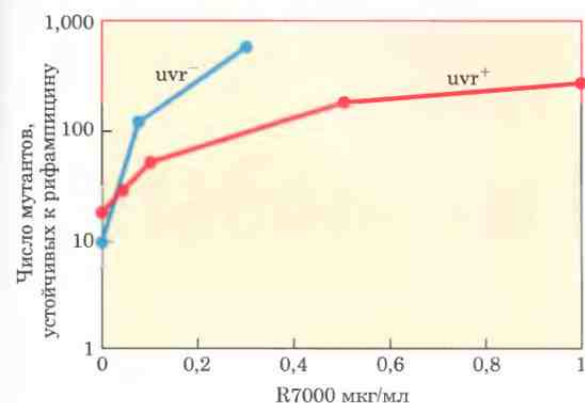
В условиях *in vivo* R7000 активируется ферментом нитроредуктазой, и возникающая более активная форма образует ковалентную связь с ДНК, главным образом с парами G=C, но не только. В 1996 г. Кийарде, Туати и Хофнунг изучали механизм мутагенного действия R7000 на клетки *E. coli*. Они сравнили генотоксическую активность R7000 к двум штаммам *E. coli*: штамму дикого типа (*uvr*⁺) и мутантному штамму, не имеющему активности *uvrA* (*uvr*⁻; см. табл. 25-6). Сначала исследователи определяли степень мутагенности. Антибиотик рифампицин ингибирует РНК-полимеразу (см. гл. 26); в его присутствии клетки могут расти только при условии, что в гене РНК-полимеразы произошли определенные мутации. Таким образом, появление устойчивых к рифампицину колоний может являться мерой мутагенности.

Было проанализировано действие R7000 в разной концентрации; результаты эксперимента представлены ниже.



а) Почему мутации возникают даже при отсутствии R7000?

Кийарде с соавторами также определяли выживаемость бактерий, обработанных R7000 в различных концентрациях.



б) Объясните, почему обработка R7000 убивает клетки бактерий.

в) Объясните различия в степени мутагенности R7000 и выживаемости для двух штаммов бактерий — *uvr*⁺ и *uvr*⁻ (см. данные).

Далее исследователи стали измерять количество R7000, образовавшего ковалентную связь с ДНК в штаммах *uvr*⁺ и *uvr*⁻. Они инкубировали бактерии с [³H]R7000 в течение 10 или 70 мин, экстрагировали ДНК и определяли в ней уровень ³H в имп./мин в расчете на микрограмм ДНК.

Время, мин	³ H в ДНК, имп./мин · мкг	
	<i>uvr</i> ⁺	<i>uvr</i> ⁻
10	76	159
70	69	228

г) Объясните, почему со временем содержание ³H уменьшается в штамме *uvr*⁺ и увеличивается в штамме *uvr*⁻.

Кийарде с коллегами исследовали также изменения последовательности ДНК, вызванные воздействием R7000 в штаммах *uvr*⁺ и *uvr*⁻. Для этого они использовали шесть различных штаммов *E. coli*, каждый из которых содержал специфическую точечную мутацию в гене *lacZ*, который кодирует β-галактозидазу (этот фермент катализирует ту же реакцию, что и лактаза; см.

рис. 14-10 в т. 2). Клетки с любой из этих мутаций имеют нефункциональную β-галактозидазу и не могут метаболизировать лактозу (фенотип Lac⁻). Для восстановления функции гена *lacZ* и фенотипа Lac⁺ в каждом конкретном мутанте требовалась специфическая обратная мутация. Высеивая клетки на среду, содержащую лактозу в качестве единственного источника углерода, можно производить селективный отбор таких Lac⁺-клеток, претерпевших обратную мутацию. Подсчет числа Lac⁺-клеток после мутагенеза каждого штамма позволяет определить частоту мутаций каждого типа.

Сначала исследователи проанализировали спектр мутаций в клетках *uvr*⁻. В таблице представлены результаты для шести штаммов — от CC101 до CC106 (в скобках указаны точечные мутации, необходимые для образования фенотипа Lac⁺ в каждом случае).

R7000, мкг/мл	Количество клеток Lac ⁺ (среднее ± стандартное отклонение)					
	CC101 (A=T на C=G)	CC102 (G=C на A=T)	CC103 (G=C на C=G)	CC104 (G=C на T=A)	CC105 (A=T на T=A)	CC106 (A=T на G=C)
0	6±3	11±9	2±1	5±3	2±1	1±1
0,075	24±19	34±3	8±4	82±23	40±14	4±2
0,15	24±4	26±2	9±5	180±71	130±50	3±2

д) При каких мутациях количество клеток с фенотипом Lac⁺ увеличивается в значительной степени в результате обработки препаратом R7000? Объясните, почему у одних штаммов частота возникновения такого фенотипа выше, чем у других.

е) Могут ли все перечисленные мутации объясняться ковалентным связыванием R7000 с парой GC? Поясните свой ответ.

ж) На рис. 25-28, б показано, как метилирование остатков гуанина может приводить к замене GC на AT. Используя тот же путь, покажите, каким образом аддукт G-R7000 мог бы приводить к замене GC на AT или на TA в приведенном выше примере. Какое основание образует пару с аддуктом G-R7000?

Результаты для штаммов *uvr*⁺ представлены ниже.

	Количество клеток Lac ⁺ (среднее ± стандартное отклонение)					
	CC101 (A=T на C=G)	CC102 (G=C на A=T)	CC103 (G=C на C=G)	CC104 (G=C на T=A)	CC105 (A=T на T=A)	CC106 (A=T на G=C)
R7000, мкг/мл						
0	2±2	10±9	3±3	4±2	6±1	0,5±1
1	7±6	21±9	8±3	23±15	13±1	1±1
5	4±3	15±7	22±2	68±25	67±14	1±1

з) Указывают ли данные результаты на то, что все типы мутаций исправляются с одинаковой точностью? Объясните свой ответ.

Литература

Quillardet, P., Touati, E., & Hofnung, M. (1996) Influence of the uvr-dependent nucleotide excision repair on DNA adducts formation and mutagenic spectrum of a potent genotoxic agent: 7-methoxy-2-nitronaphtho[2,1-*b*]furan (R7000). *Mutat. Res.* **358**, 113–122.

В клетке РНК содержится и в ядре, и в частицах цитоплазмы, и в качестве «растворимой» РНК в клеточном соке; многими специалистами было показано, что все эти три фракции РНК возобновляются по-разному. При любом обсуждении роли РНК в клетке важно представлять, что РНК крайне неоднородна с точки зрения ее метаболизма и, возможно, в связи с этим принадлежит более чем к одному типу.

— *Фрэнсис Крик, статья в материалах Симпозиума Общества экспериментальной биологии, 1958*

Метаболизм РНК

26.1. ДНК-зависимый синтез РНК 106

26.2. Процессинг РНК 122

26.3. РНК-зависимый синтез РНК и ДНК 144

Экспрессия заложенной в гене информации обычно происходит через образование молекулы РНК, транскрибируемой с матрицы ДНК. Последовательности РНК и ДНК могут показаться, на первый взгляд, очень похожими, по химическому строению они различаются только тем, что в РНК урацил заменен на тимин, а у альдопентозы в положении 2' находится гидроксильная группа. Однако в отличие от ДНК большинство молекул РНК выполняет свои функции в виде одноцепочечных молекул, которые складываются различными способами и по сравнению с ДНК гораздо более разнообразны (см. гл. 8 в т. 1). Таким образом, РНК приспособлена к выполнению различных клеточных функций.

РНК — единственная известная макромолекула, которая участвует как в хранении, так и в передаче информации, а кроме того, и в катализе; это позволило выдвинуть гипотезу о ее участии в развитии жизни на нашей планете в качестве самого важного молекулярного предшественника. Открытие каталитических РНК, или рибозимов, изменило само представление о ферментах, функцию которых, как считалось ранее, могут выполнять только белки. Тем не менее белки необходимы для функционирования РНК. В современной клетке все нуклеиновые кислоты, включая молекулы РНК, связаны с белками. Некото-

рые из этих комплексов очень сложно устроены, и входящая в них РНК может совмещать структурную и каталитическую функции.

Все молекулы РНК, исключая геномные РНК некоторых вирусов, переносят информацию, которая постоянно хранится в форме ДНК. В ходе **транскрипции** ферментная система преобразует генетическую информацию на участке двухцепочечной ДНК в цепь РНК с последовательностью оснований, комплементарной одной из цепей ДНК. Образуется три основных типа РНК. **Матричная РНК (мРНК)** кодирует аминокислотную последовательность одного или нескольких полипептидов, определяемую геном или набором генов. **Транспортная РНК (тРНК)** считывает информацию, закодированную в мРНК, и переносит соответствующую аминокислоту на растущую полипептидную цепь в ходе синтеза белка. **Рибосомная РНК (рРНК)** входит в состав рибосом — сложных клеточных структур, осуществляющих синтез белков. Многие дополнительные специализированные молекулы РНК осуществляют регуляторные или каталитические функции или являются предшественниками РНК трех выделенных выше типов. Эти РНК больше не рассматриваются в качестве минорных разновидностей в списке клеточных РНК. У позвоночных гораздо больше типов РНК, чем просто «классические» мРНК, тРНК или рРНК.

При репликации обычно копируется целая хромосома, транскрипция же более избирательна. Одномоментно транскрибируются только отдельные гены или группы генов, а некоторые части генома ДНК не транскрибируются никогда.

Клетка ограничивает экспрессию генетической информации, благодаря чему образуются лишь те продукты генов, которые необходимы в данный момент. Специфические регуляторные последовательности отмечают начало и окончание транскрибируемых участков ДНК, а также то, какая цепь дуплексной ДНК должна использоваться в качестве матрицы. Подробно регуляция транскрипции описана в гл. 28.

Всю совокупность молекул РНК, производимых клеткой в определенных условиях, называют **транскриптомом** клетки. Учитывая, что только сравнительно небольшая часть генома человека кодирует белки, можно было бы ожидать, что транскрибируется лишь малая часть генома. Однако это не так. С помощью современных методов анализа транскрипции на микрочипах удалось установить, что значительная часть генома человека и других млекопитающих транскрибируется в РНК, причем основными продуктами являются не мРНК, тРНК или рРНК, а множество различных РНК со специфическими функциями. По-видимому, многие из них участвуют в регуляции экспрессии генов, однако роль большинства остается неизвестной.

В этой главе рассматривается процесс синтеза РНК на матрице ДНК, последующий процессинг и оборот молекул РНК. Обсуждаются многие специфические функции РНК, в том числе каталитические. Интересно, что субстратами для ката-

литических РНК часто служат другие молекулы РНК. Мы также рассмотрим системы, в которых молекула РНК служит матрицей, а ДНК — продуктом, а не наоборот. Информационные метаболические пути, таким образом, образуют полный цикл, демонстрируя, что синтез нуклеиновой кислоты на матрице происходит по стандартным правилам независимо от природы матрицы или продукта (РНК или ДНК). Обсуждение взаимных превращений ДНК и РНК в качестве носителей информации подводит к вопросу об эволюционном происхождении биологической информации.

26.1. ДНК-зависимый синтез РНК

Рассмотрение синтеза РНК мы начнем с сопоставления процессов транскрипции и репликации ДНК (гл. 25). Транскрипция похожа на репликацию своим основополагающим химическим механизмом, своей полярностью (направлением синтеза) и наличием матрицы. Подобно репликации, транскрипция состоит из этапов инициации, элонгации и терминации, хотя в литературе при описании транскрипции инициацию подразделяют на два самостоятельных этапа — связывание ДНК и инициацию синтеза РНК. Транскрипция отличается от репликации тем, что для нее не требуется праймер и, как пра-

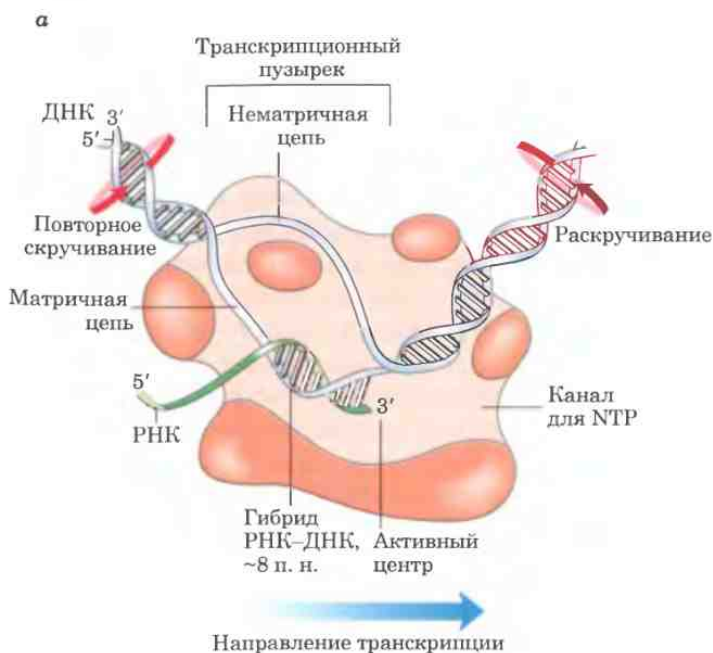


Рис. 26-1. МЕХАНИЗМ РЕАКЦИИ. Транскрипция у *E. coli*, осуществляемая РНК-полимеразой. ДНК временно раскручивается для синтеза цепи РНК, комплементарной одной из двух цепей в двойной спирали. **а** — в любой момент времени в раскрученном состоянии находится участок длиной около 17 п. н. РНК-полимераза и транскрипционный пузырек по мере синтеза РНК двигаются слева направо вдоль ДНК, как показано на рисунке. Молекула ДНК раскручивается впереди и закручивается позади пузырька. Красные стрелки указывают направление, в котором ДНК должна вращаться для обеспечения этого процесса. После обратного закручивания ДНК гибрид РНК-ДНК распадается, и цепь РНК высвобождается. РНК-полимераза находится в тесном контакте с ДНК впереди транскрипционного пузырька, а также с разделенными цепями ДНК и РНК внутри и сразу за пузырьком. Через канал в белке к активному центру полимераза поступают новые нуклеозидтрифосфаты (NTP). В процессе элонгации полимераза покрывает собой участок ДНК длиной около 35 п. н.

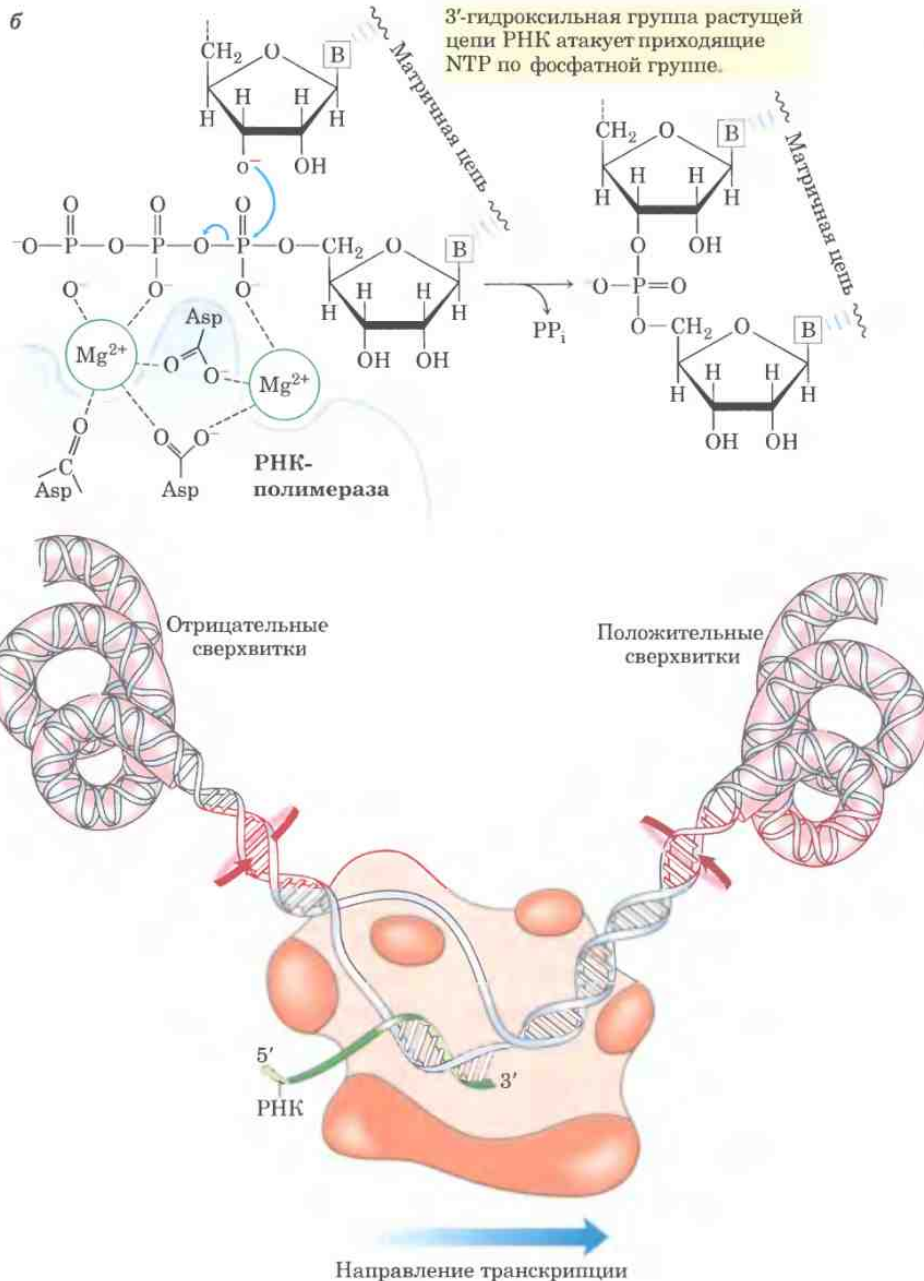
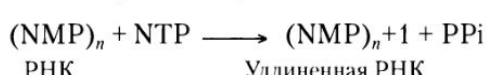


Рис. 26-1. Продолжение. б — механизм синтеза РНК с помощью РНК-полимеразы похож на механизм действия ДНК-полимеразы (см. рис. 25-5, б). В реакции принимают участие два иона Mg^{2+} , координированных по фосфатным группам поступающего NTP и трем остаткам Asp (Asp⁴⁶⁰, Asp⁴⁶² и Asp⁴⁶⁴ в β' -субъединице РНК-полимеразы *E. coli*), которые консервативны в РНК-полимеразах у всех видов. Один ион Mg^{2+} способствует присоединению 3'-гидроксила к α -фосфату NTP; другой Mg^{2+} обеспечивает уход пиррофосфата; и тот и другой Mg^{2+} временно стабилизируют пятикоординатное состояние. в — при транскрипции происходит изменение суперскручивания ДНК. Движение РНК-полимеразы вдоль ДНК вызывает появление положительных сверхвитков (перекрученная ДНК) впереди транскрипционного пузыря и отрицательных сверхвитков (частично раскрученная ДНК) позади него. Топоизомеразы быстро удаляют положительные сверхвитки и регулируют отрицательное суперскручивание (гл. 24).

вило, в ней участвуют только отдельные участки молекулы ДНК. Кроме того, матрицей для каждой конкретной молекулы РНК при транскрипции служит только одна цепь ДНК.

РНК синтезирует РНК-полимераза

Открытие ДНК-полимеразы, зависящей от матрицы ДНК, подстегнуло поиск фермента, синтезирующего молекулу РНК, комплементарную цепи ДНК. К 1960 г. четыре группы исследователей независимо друг от друга обнаружили в клеточных экстрактах фермент, который может формировать полимер РНК из рибонуклеозид-5'-трифосфатов. Последующее изучение очищенной РНК-полимеразы *Escherichia coli* помогло установить основные принципы транскрипции (рис. 26-1). Для **ДНК-зависимой РНК-полимеразы** необходимы, помимо матрицы ДНК, все четыре рибонуклеозид-5'-трифосфата (АТР, ГТР, УТР и СТР) в качестве нуклеотидных предшественников РНК, а также ионы Mg^{2+} . Фермент, кроме того, связывает один катион Zn^{2+} . По химической сути и механизму синтез РНК очень напоминают синтез ДНК ДНК-полимеразой (см. рис. 25-5). РНК-полимераза удлиняет цепь РНК, добавляя рибонуклеотидные звенья к 3'-гидроксильному концу и надстраивая РНК в направлении 5'→3'. Гидроксильная группа на 3'-конце действует как нуклеофил, атакуя α-фосфат поступающего рибонуклеозидтрифосфата (рис. 26-1, б) и высвобождая пирофосфат. В общем виде реакция выглядит следующим образом:



РНК-полимераза нуждается в ДНК, и ее активность максимальна при связывании с двухцепочечной ДНК. Выше отмечалось, что матрицей служит только одна цепь ДНК. Матричная цепь ДНК копируется в направлении 3'→5' (противоположном росту новой цепи РНК), как и при репликации ДНК. Каждый нуклеотид в новой РНК присоединяется по правилу Уотсона–Крика: остаток U в РНК встраивается в пару к остатку A в матрице ДНК, а остаток G — в пару к остатку C. При выборе пары может иметь значение геометрия пар оснований (см. рис. 25-6).

В отличие от ДНК-полимеразы РНК-полимераза не нуждается в праймере для инициации синтеза. Инициация происходит при связывании

РНК-полимеразы со специфическими последовательностями ДНК — промоторами (описаны ниже). 5'-Трифосфатная группа первого остатка в синтезируемой молекуле РНК не расщепляется с высвобождением PP_i , а сохраняется на протяжении всего процесса транскрипции. На стадии элонгации основания на растущем конце новой цепи РНК временно образуют пары с основаниями в матрице ДНК, что приводит к формированию короткого участка гибридной двойной спирали РНК–ДНК длиной около 8 п. н. (рис. 26-1, а). Вскоре после образования этой структуры РНК покидает дуплекс, и заново формируется дуплекс ДНК.

Чтобы РНК-полимераза могла синтезировать цепь РНК, комплементарную одной из двух цепей ДНК, ДНК-дуплекс на коротком участке расплетается, образуя транскрипционный «пузырек». В клетках *E. coli* РНК-полимераза обычно оставляет раскрученными примерно 17 п. н., из них 8 п. н. образуют гибрид РНК–ДНК. Удлинение транскрипта РНК-полимеразой *E. coli* происходит со скоростью от 50 до 90 нуклеотидов в секунду. Поскольку ДНК находится в виде спирали, для продвижения пузырька требуется поворот цепей молекул нуклеиновой кислоты. В большинстве молекул ДНК вращение цепи ограничивается ДНК-связывающими белками и другими структурными барьерами. В результате движущаяся РНК-полимераза генерирует серию положительных сверхвитков впереди транскрипционного пузырька и отрицательных сверхвитков позади него (рис. 26-1, в). Этот процесс происходит как *in vitro*, так и *in vivo* (у бактерий). В клетке топологические проблемы, связанные с транскрипцией, разрешаются благодаря действию топоизомераз (гл. 24).

КЛЮЧЕВЫЕ ДОГОВОРЕННОСТИ. При транскрипции две комплементарные цепи ДНК выполняют разные функции. Цепь, которая служит матрицей для синтеза РНК, называется **матричной цепью**. Комплементарная ей **нематричная**, или **кодирующая, цепь** идентична по нуклеотидной последовательности транскрибируемой с данного гена РНК, с тем лишь отличием, что РНК содержит U вместо T (рис. 26-2). Для конкретного гена кодирующей цепью может быть любая цепь данной хромосомы (как показано на рис. 26-3 для вируса). По договоренности, регуляторные последовательности, которые контролируют транскрипцию (описаны ниже в этой главе), обозначаются на кодирующей цепи. ■

(5') CGCTATAGCGTTT(3')	Нематричная (кодирующая) цепь ДНК
(3') GCGATATCGCAA(5')	Матричная цепь ДНК
(5') CGCUAUAGCGUUU(3')	РНК-транскрипт

Рис. 26-2. Матричная и нематричная (кодирующая) цепи ДНК. Две комплементарные цепи ДНК выполняют в ходе транскрипции разные функции. Транскрипт РНК, синтезированный на матричной цепи, идентичен последовательности нематричной, или кодирующей, цепи (с учетом замены Т на U).

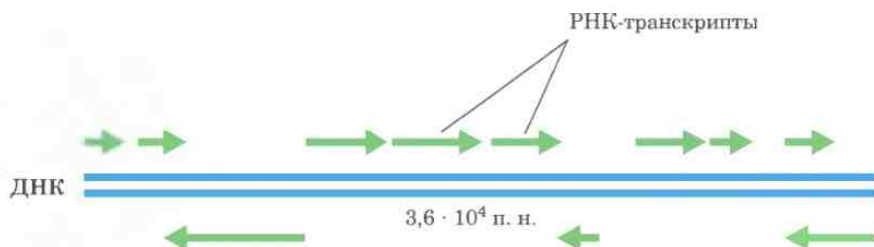


Рис. 26-3. Кодирование информации в геноме аденовируса. Генетическая информация генома аденовируса (самый простой пример) закодирована в молекуле двухцепочечной ДНК размером 36 000 п. н., обе цепи которой кодируют белки. Информация о большинстве белков закодирована в верхней цепи — по договоренности цепь ориентирована слева направо от 5'-конца к 3'-концу. Для этих транскриптов нижняя цепь играет роль матрицы. Однако некоторые белки кодируются нижней цепью ДНК, которая транскрибируется в противоположном направлении (для них матрицей служит верхняя цепь). В реальности синтез молекул мРНК аденовируса намного сложнее. Многие молекулы мРНК, показанные на верхней цепи, сначала синтезируются в виде единого длинного транскрипта (из 25 000 нуклеотидов), который затем подвергается процессингу, превращаясь в отдельные молекулы мРНК. Аденовирусы вызывают инфекции верхних дыхательных путей у некоторых позвоночных.

ДНК-зависимая РНК-полимераза *E. coli* — большой сложный фермент, состоящий из пяти субъединиц $\alpha_2\beta\beta'\omega$ (называется кор-частицей; $M_r = 390\,000$) и шестой субъединицы σ , имеющей различающиеся по размеру (по молекулярной массе) варианты. Субъединица σ временно связывается с кор-частицей и направляет фермент к специфическому участку в молекуле ДНК

(показано ниже). Эти шесть субъединиц составляют холофермент РНК-полимеразы (рис. 26-4). Холофермент РНК-полимеразы *E. coli* существует, таким образом, в нескольких формах в зависимости от типа σ -субъединицы. Обычно это субъединица σ^{70} ($M_r = 70\,000$), и далее мы будем говорить именно об этом варианте холофермента РНК-полимеразы.

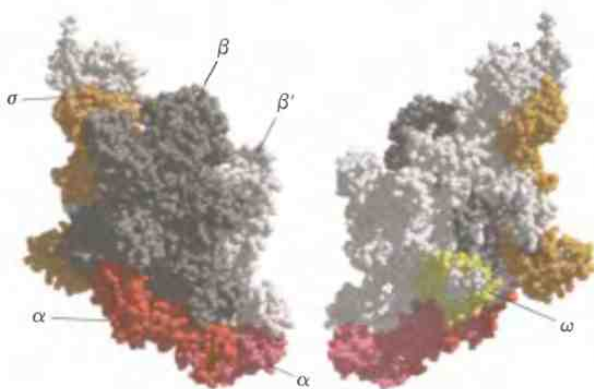


Рис. 26-4. Строение холофермента РНК-полимеразы бактерии *Thermus aquaticus* (на основании PDB ID 1IW7). В целом строение фермента очень напоминает структуру РНК-полимеразы *E. coli* (здесь не показаны ни РНК, ни ДНК). β -Субъединица выделена темно-серым цветом, β' -субъединица светло-серым; две α -субъединицы показаны разными оттенками красного; ω -субъединица желтая; σ -субъединица бежевая. Изображение слева ориентировано так же, как на рис. 26-6. При повороте структуры на 180° вокруг оси y (справа) становится видна небольшая субъединица ω .

РНК-полимеразы не имеют независимой 3'→5'-экзонуклеазной активности для исправления ошибок (как многие ДНК-полимеразы), и частота ошибок при транскрипции выше, чем при репликации хромосомной ДНК — примерно одна ошибка на каждые 10^4 – 10^5 встроенных рибонуклеотидов. Поскольку с одного гена обычно образуется множество копий РНК, и все молекулы РНК в конечном итоге разрушаются и удаляются, ошибка в молекуле РНК не имеет для клетки столь серьезных последствий, как ошибки в ДНК — постоянном источнике информации. Многие РНК-полимеразы, в том числе бактериальная РНК-полимераза и эукариотическая РНК-полимераза II (обсуждается ниже), останавливаются, если в ходе транскрипции добавляется неправильное основание, и могут удалять аномальные нуклеотиды с 3'-конца транскрипта благодаря реакции, обратной полимеразной реакции. Но пока неизвестно, является ли эта активность истинно корректирующей активностью и каков ее вклад в точность транскрипции.

Синтез РНК начинается с промоторов

Инициация синтеза РНК в случайных точках молекулы ДНК была бы недопустимой расточительностью. Поэтому РНК-полимераза связывается

со специфическими последовательностями ДНК, называемыми **промоторами**, которые направляют транскрипцию прилежащих участков ДНК (генов). Последовательности ДНК для связывания РНК-полимераз достаточно разнообразны, идентификации этих последовательностей, определяющих функцию промотора, посвящены многие исследования.

Связывание РНК-полимеразы *E. coli* происходит в области, начинающейся примерно за 70 п. н. до точки начала транскрипции и заканчивающейся через 30 п. н. после нее. По договоренности, пары оснований ДНК, соответствующие началу молекулы РНК, имеют положительную нумерацию, а расположенные выше точки начала транскрипции — отрицательную. Таким образом, область промотора расположена на участке между позициями –70 и +30. Сравнительный анализ бактериальных промоторов наиболее распространенного класса (распознаваемых холоферментом РНК-полимеразы, содержащим σ^{70}) выявил характерные последовательности около позиций –10 и –35 (рис. 26-5). Эти последовательности важны для взаимодействия с субъединицей σ^{70} . Хотя эти последовательности не идентичны для всех бактериальных промоторов данного класса, некоторые нуклеотиды, которые чаще всего встречаются в конкретной позиции, образуют

	Элемент UP	Область –35	Спейсер	Область –10	Спейсер	Начало РНК
						+1
Консенсусная последовательность	NNAAA ^{AA} _{TT} ^A _T TTTNNAAAAANN	N TTGACA	N ₁₇	TATAAT	N ₆	
<i>rnb P1</i>	AGAAAAATTATTTTAAATTCCT	N GTGTCA	N ₁₆	TATAAT	N ₈	A
<i>trp</i>		TTGACA	N ₁₇	TTAACT	N ₇	A
<i>lac</i>		TTTACA	N ₁₇	TATGTT	N ₆	A
<i>recA</i>		TTGATA	N ₁₆	TATAAT	N ₇	A
<i>araBAD</i>		CTGACG	N ₁₈	TACTGT	N ₆	A

Рис. 26-5. Типичные промоторы *E. coli*, распознаваемые холоферментом РНК-полимеразы, содержащим σ^{70} . Последовательности нематричной цепи представлены обычным способом (в направлении 5'→3'). Последовательности разных промоторов различаются, но при сравнении многих промоторов выявляется некоторое сходство, особенно в позициях –10 и –35. UP-элемент, имеющийся не во всех промоторах *E. coli*, обнаружен в промоторе P1 активно экспрессирующейся рРНК гена *rnb*. UP-элементы, обычно расположенные в области от –40 до –60, эффективно стимулируют транскрипцию с содержащих эти элементы промоторов. В промоторе *rnb P1* UP-элемент охватывает область от –38 до –59. Консенсусная последовательность для промоторов *E. coli*, распознаваемая σ^{70} , показана второй сверху. В промежуточных участках (спейсерах) слабо различающееся число нуклеотидов (N). Показан только первый нуклеотид последовательности, кодирующей транскрипт (позиция +1).

Дополнение 26-1 ПРАКТИЧЕСКАЯ БИОХИМИЯ РНК-полимераза оставляет свой след на промоторе

Метод футпринтинга основан на принципах, применяемых при секвенировании ДНК, и позволяет идентифицировать последовательности ДНК, связанные с конкретным белком. Выделяют фрагмент ДНК, который предположительно содержит последовательности,

распознаваемые ДНК-связывающим белком, и радиоактивно метят один конец одной из цепей (рис. 1). Затем с помощью химических реагентов или ферментов во фрагмент ДНК вносят несколько разрывов (в среднем один разрыв на молекулу). При разделении меченых продук-

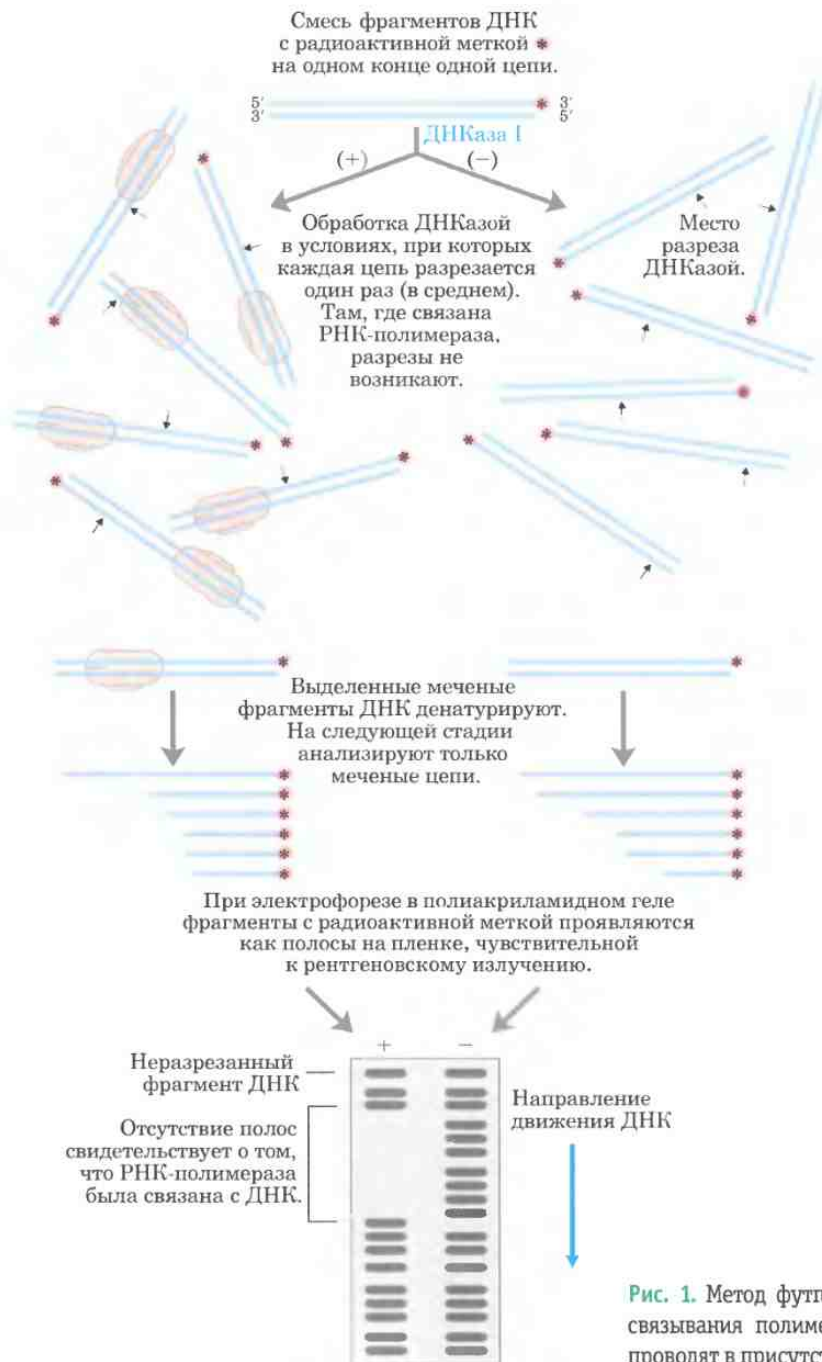


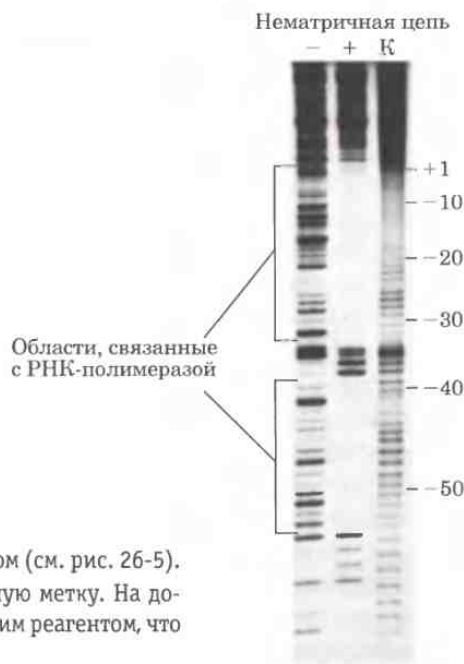
Рис. 1. Метод футпринтинга для идентификации участка связывания полимеразы на фрагменте ДНК. Разделение проводят в присутствии (+) и в отсутствие (-) полимеразы.

Дополнение 26-1 ПРАКТИЧЕСКАЯ БИОХИМИЯ РНК-полимераза оставляет свой след... (продолжение)

тов расщепления (расщепленные фрагменты разной длины) методом электрофореза с высоким разрешением образуется «забор» радиоактивных полос. В отдельной пробирке повторяют такую же процедуру расщепления того же фрагмента ДНК, но в присутствии ДНК-связывающего белка. Затем два набора продуктов подвергают электрофорезу, нанося на соседние дорожки, и сравнивают полученные результаты. Пробел («футпринт») в серии радиоактивных полос в образце ДНК с белком соответствует фрагменту, защищенному ДНК-связывающим белком. Так можно определить последовательности, с которыми связывается белок.

Точное положение участка связывания белка можно установить прямым секвенированием (рис. 8-34 в т. 1) того же фрагмента ДНК с последующим разделением продуктов в том же геле (не показано). На рис. 2 представлены результаты связывания РНК-полимеразы с фрагментом ДНК, содержащим промотор. Полимераза покрывает участок длиной от 60 до 80 п. н.; защищенными оказываются, в том числе, области -10 и -35.

Рис. 2. Определение участка связывания РНК-полимеразы с *lac*-промотором (см. рис. 26-5). В этом эксперименте 5'-конец нематричной цепи содержал радиоактивную метку. На дорожке К нанесен контроль, в котором меченую ДНК расщепляли химическим реагентом, что позволило получить картину с равномерным распределением полос.



консенсусную последовательность (вспомните последовательность *oriC* у *E. coli*; см. рис. 25-11). Консенсусная последовательность в области -10: (5')ТАТААТ(3'); консенсусная последовательность в области -35: (5')ТТГАСА(3'). Третий,

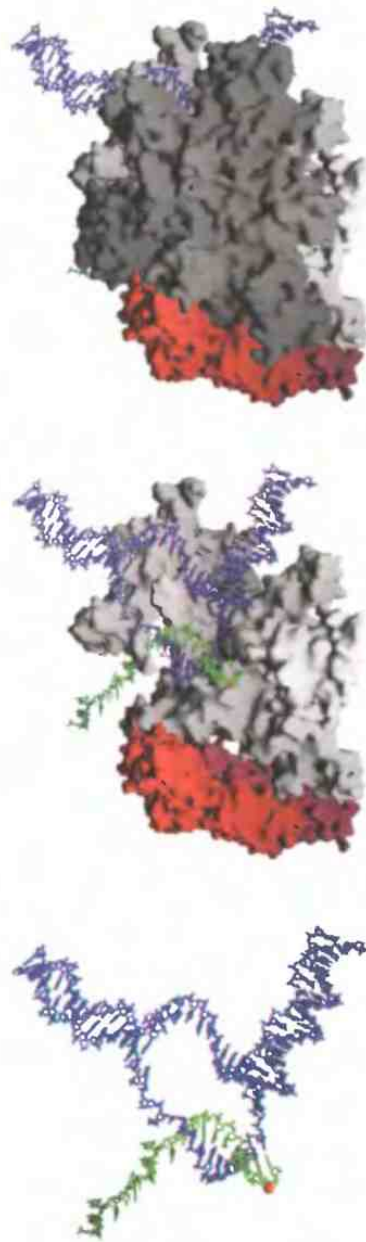
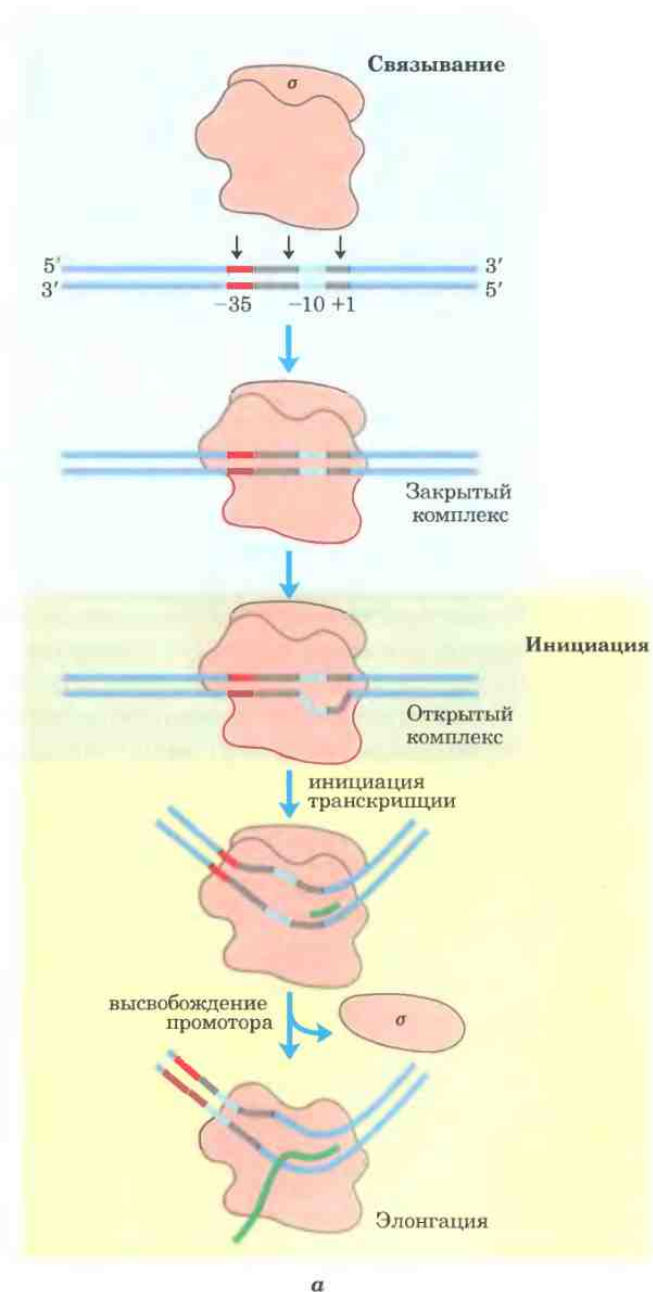
богатый основаниями АТ фрагмент называется UP-элементом (от англ. *upstream promoter* — выше промотора); он находится между позициями -40 и -60 в промоторах некоторых активно экспрессируемых генов. UP-элемент связывается

Рис. 26-6. Инициация и элонгация транскрипции РНК-полимеразой *E. coli*. *a* — инициация транскрипции обычно включает две основные стадии — связывание и инициацию. При связывании иницирующее взаимодействие РНК-полимеразы с промотором приводит к закрытому комплексу, в котором промоторная ДНК прочно связывается, но не раскручивается. Затем фрагмент ДНК размером 12–15 п. н. в области от -10 до +2 или +3 раскручивается, образуя открытый комплекс. На стадиях, предшествующих закрытому и открытому комплексам, были обнаружены дополнительные промежуточные соединения и несколько конформационных изменений белков (не показаны). При инициации транскрипции происходит высвобождение промотора. После синтеза первых 8 или 9 нуклеотидов новой РНК субъединица σ высвобождается, полимераз покидает промотор и осуществляет элонгацию РНК. *б* — строение кор-частицы РНК-полимеразы *E. coli* на стадии элонгации. Окраска субъединиц такая же, как на рис. 26-4: β - и β' -субъединицы — темно- и светло-серые; α -субъединицы красные; ω -субъединица в этом ракурсе не видна. σ -Субъединица отсутствует, так как она отделилась после инициации. Вверху показан комплекс в целом, с фрагментами ДНК и РНК. Активный центр транскрипции находится в щели между β - и β' -субъединицами. На среднем рисунке β -субъединица не показана, так что видны активный центр и область гибридизации ДНК-РНК. В активном центре находится ион Mg^{2+} (красная точка). На нижнем рисунке все белки удалены, чтобы показать, как ДНК и РНК протягиваются через комплекс.

с α -субъединицей РНК-полимеразы. Эффективность, с которой РНК-полимераза связывается с промотором и инициирует транскрипцию, в значительной степени определяется этими последовательностями, расстоянием между ними и их удаленностью от точки начала транскрипции.

Функциональное значение последовательностей в позициях -10 и -35 подтверждается множеством независимых доказательств. Мутации, влияющие

на работу промотора, часто затрагивают основания из этих областей. Изменения в консенсусной последовательности также влияют на эффективность связывания РНК-полимеразы и инициацию транскрипции. Замена лишь одной пары оснований может снизить эффективность связывания на несколько порядков. Таким образом, промоторная последовательность задает базовый уровень экспрессии, который для разных генов *E. coli*



может существенно различаться. Метод изучения взаимодействия между РНК-полимеразой и промоторами обсуждается в доп. 26-1.

Постепенно проясняется механизм инициации транскрипции и роль σ -субъединицы (рис. 26-6, а). Процесс инициации состоит из двух основных этапов, связывания и собственно инициации, причем каждый этап осуществляется в несколько стадий. Сначала полимераза, направ-

ляемая фактором σ , связывается с промотором, в результате чего последовательно образуются закрытый комплекс (в котором связанная ДНК остается интактной) и открытый комплекс (в котором связанная ДНК частично раскручивается около позиции -10). Затем в комплексе начинается транскрипция, что приводит к конформационному изменению — комплекс переходит в форму, характерную для элонгации, по-

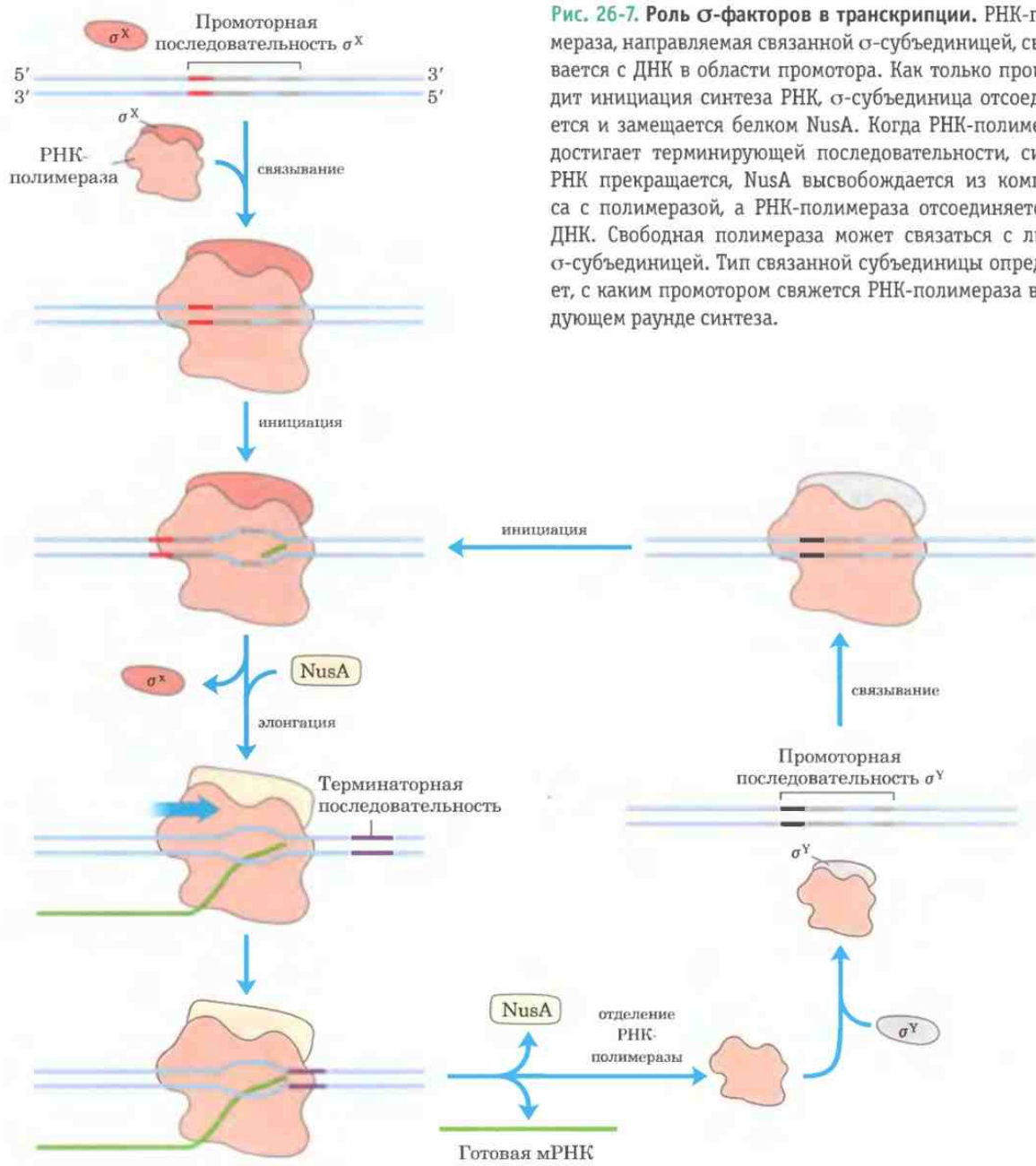


Рис. 26-7. Роль σ -факторов в транскрипции. РНК-полимераза, направляемая связанной σ -субъединицей, связывается с ДНК в области промотора. Как только происходит инициация синтеза РНК, σ -субъединица отсоединяется и замещается белком NusA. Когда РНК-полимераза достигает терминирующей последовательности, синтез РНК прекращается, NusA высвобождается из комплекса с полимеразой, а РНК-полимераза отсоединяется от ДНК. Свободная полимераза может связаться с любой σ -субъединицей. Тип связанной субъединицы определяет, с каким промотором свяжется РНК-полимераза в следующем раунде синтеза.

Таблица 26-1 Семь типов субъединиц σ у *Escherichia coli*

Субъединица σ	K_d (нмоль/л)	Число молекул на клетку*	Доля этого холофермента (%)*	Функция
σ^{70}	0,26	700	78	Гены домашнего хозяйства
σ^{54}	0,30	110	8	Регуляция уровня азота в клетке
σ^{38}	4,26	<1	0	Гены стационарной фазы
σ^{32}	1,24	<10	0	Гены теплового шока
σ^{28}	0,74	370	14	Гены жгутика и хемотаксиса
σ^{24}	2,43	<10	0	Внецитоплазматические функции; участие в реакции на тепловой шок
σ^{18}	1,73	<1	0	Внецитоплазматические функции, включая транспорт цитрата железа

Источник. По Maeda, H., Fujita, N., & Ishihama, A. (2000) *Nucleic. Acids Res.* **28**, 3500; с изм.

Замечание. σ -Факторы широко распространены у бактерий; их число варьирует от одного σ -фактора у *Mycoplasma genitalium* до 63 у *Streptomyces coelicolor*.

* Приблизительное число σ -субъединиц каждого типа в клетке, а также доля холофермента РНК-полимеразы, образующего комплекс с этой σ -субъединицей в экспоненциальной фазе роста. Эти значения зависят от условий роста. Доля молекул РНК-полимеразы, образующих комплекс с каждой σ -субъединицей, отражает как количество субъединиц этого типа, так и их средство к ферменту.

сле чего сдвигается с промотора (высвобождение промотора). Каждая из этих стадий зависит от специфической последовательности промотора. При переходе полимеразы к стадии элонгации субъединица σ спонтанно диссоциирует. Участие РНК-полимеразы в элонгации схематично отражено на рис. 26-6, б. Белок NusA ($M_r = 54\,430$) связывается с РНК-полимеразой, конкурируя с σ -субъединицей. После окончания транскрипции NusA отсоединяется от фермента, РНК-полимераза диссоциирует из комплекса с ДНК, а фактор σ (σ^{70} или другой) может связываться с ферментом, чтобы снова инициировать транскрипцию; этот цикл иногда называют σ -циклом (рис. 26-7).

В ДНК *E. coli* есть и другие классы промоторов, с которыми связываются холоферменты РНК-полимеразы с другими σ -субъединицами (табл. 26-1), например, промоторы генов теплового шока. Продукты этих генов образуются в более высокой концентрации, если клетка подвергается сильному воздействию, такому как внезапное повышение температуры. РНК-полимераза связывается с промоторами этих генов, только когда субъединица σ^{70} заменяется субъединицей σ^{32} ($M_r = 32\,000$), специфичной к промоторам белков теплового шока (см. рис. 28-3). С помощью различных σ -субъединиц клетка может координи-

ровать экспрессию, что позволяет ей значительно изменять свое физиологическое состояние. Какой именно набор генов будет экспрессироваться, зависит от доступности различных σ -субъединиц, что в свою очередь определяется рядом факторов: регулируемой скоростью синтеза и деградации, постсинтетическими модификациями, переводящими отдельные σ -субъединицы из активной формы в неактивную и обратно, а также специализированным классом анти- σ -белков, связывающихся с определенным типом σ -субъединиц и делающих их недоступными для инициации транскрипции.

Транскрипция регулируется на нескольких уровнях

Потребности в продуктах любых генов изменяются в зависимости от состояния клетки и стадии развития, и транскрипция каждого гена строго регулируется, чтобы обеспечить синтез конкретного продукта в строго определенном количестве. Регуляция может происходить на любой стадии транскрипции, включая элонгацию и терминацию. Однако часто регуляции подвергаются стадии связывания полимеразы и инициации транскрипции, изображенные на рис. 26-6, а. Один из примеров

многоуровневого контроля — наличие промоторов с различными последовательностями.

Связывание белков с последовательностями вблизи и вдали от промотора также оказывает влияние на уровень экспрессии генов. Связывание белка может *активировать* транскрипцию, облегчая связывание РНК-полимеразы, или *подавлять* транскрипцию, блокируя активность полимеразы. У *E. coli* одним из активирующих транскрипцию белков является **сАМР-рецепторный белок (CRP)**, который при отсутствии глюкозы в среде роста усиливает транскрипцию генов, кодирующих ферменты метаболизма отличных от глюкозы сахаров. Белки-**репрессоры** блокируют синтез РНК специфических генов. Например, Лас-репрессор (гл. 28) блокирует транскрипцию генов ферментов, участвующих в метаболизме лактозы, когда лактоза недоступна.

Транскрипция — первая стадия в сложном и энергозатратном процессе синтеза белка, поэтому регуляция концентрации белков как у бактерий, так и у эукариот часто осуществляется на уровне транскрипции, особенно на ее ранних стадиях. В гл. 28 рассмотрены различные механизмы, с помощью которых осуществляется такая регуляция.

Специфические последовательности подают сигнал прекращения синтеза РНК

Синтез РНК происходит с высокой процессивностью (см. с. 50), поскольку, если РНК-полимераза высвобождает транскрипт РНК преждевременно, она не сможет закончить синтез, и ей придется начинать заново. Однако наличие определенных последовательностей ДНК вызывает остановку, а иногда и прекращение (терминацию) синтеза РНК. Механизм терминации у эукариот еще не до конца изучен, поэтому мы обратимся к бактериям. Клетки *E. coli* имеют по меньшей мере два типа сигналов терминации: один связан с белковым фактором ρ , другой ρ -независимый.

Большинство ρ -независимых терминаторов отличаются двумя свойствами. Во-первых, они содержат последовательность, транскрипт которой имеет комплементарные участки, образующие структуры в виде шпильки (см. рис. 8-19, а в т. 1), расположенные на расстоянии 15–20 нуклеотидов от дальнего конца цепи РНК. Во-вторых, их матричная цепь содержит консервативную по-

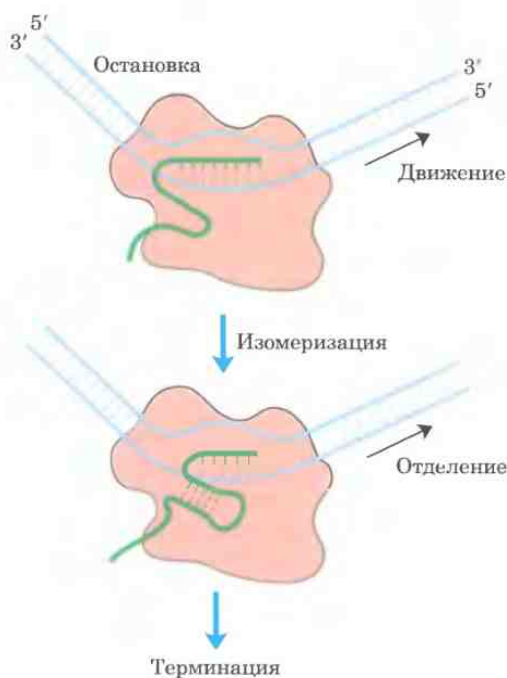


Рис. 26-8. Модель ρ -независимой терминации транскрипции в клетках *E. coli*. РНК-полимераза останавливается в разных участках последовательности ДНК, в том числе в терминаторах. Это может приводить к двум результатам: либо полимераза обходит препятствие и продолжает движение, либо комплекс претерпевает конформационные изменения и изомеризуется. В последнем случае спаривание внутримолекулярных комплементарных участков в только что синтезированном транскрипте может приводить к образованию шпильки, разрушающей РНК-ДНК-гибрид и/или взаимодействию между РНК и полимеразой, что вызывает изомеризацию. Нестабильным является АУУ-гибридный участок на 3'-конце нового транскрипта, и РНК полностью выходит из комплекса, что приводит к терминации транскрипции. Именно это обычно происходит при встрече РНК-полимеразы с терминаторами. После изомеризации комплекс может продолжить синтез РНК в других участках.

следовательность из трех остатков А, которые при транскрипции превращаются в остатки У вблизи 3'-конца шпильки. Когда полимераза достигает сайта терминации, который содержит эту структуру, она останавливается (рис. 26-8). При формировании шпильки в РНК разрывается несколько пар оснований А=У в гибриде РНК-ДНК и нарушаются важные контакты между РНК и РНК-полимеразой, что облегчает диссоциацию транскрипта.

В ρ -зависимых терминаторах нет повторяющихся остатков А в матричной цепи, но обычно присутствует СА-богатая последовательность, называемая *rut*-элементом (от англ. *rho utilization* — «ро»-использующая последовательность). Белок ρ связывается со специфическим участком РНК и перемещается в направлении 5'→3' до тех пор, пока не достигнет транскрипционного комплекса, остановившегося на сайте терминции. Здесь он способствует высвобождению РНК-транскрипта. Белок ρ обладает АТР-зависимой РНК-ДНК-хеликазной активностью, которая способствует перемещению белка вдоль РНК; при терминции ρ -белок осуществляет гидролиз АТР. Детальный механизм, посредством которого этот белок способствует высвобождению РНК-транскрипта, пока неизвестен.

В клетках эукариот содержатся РНК-полимеразы трех типов

Механизм транскрипции в ядрах эукариотических клеток намного сложнее, чем у бактерий. Эукариоты имеют три РНК-полимеразы (I, II и III), которые различаются составом комплекса, но имеют некоторые общие субъединицы. Каждая полимеразы выполняет особую функцию и

присоединяется к специфической промоторной последовательности.

РНК-полимераза I (Pol I) отвечает за синтез только одного типа РНК — пре-рРНК, которая содержит предшественников 18S, 5.8S и 28S рРНК (см. рис. 26-25). Последовательности промоторов Pol I существенно различаются у разных видов. Важная функция РНК-полимеразы II (Pol II) — синтез молекул мРНК и некоторых специализированных молекул РНК. Этот фермент распознает тысячи промоторов с сильно различающимися последовательностями. Многие промоторы Pol II обладают несколькими общими свойствами, в том числе содержат ТАТА-боксы (эукариотическая консенсусная последовательность ТАТААА) вблизи позиции -30 и Inr-последовательность (инициатор) вблизи точки начала синтеза РНК в позиции +1 (рис. 26-9).

РНК-полимераза III (Pol III) образует молекулы тРНК, 5S рРНК и некоторые другие небольшие специализированные молекулы РНК. Промоторы, распознаваемые Pol III, хорошо охарактеризованы. Интересно, что некоторые последовательности, необходимые полимеразе III для осуществления регулируемой инициации транскрипции, расположены в самом гене, а другие локализованы более традиционно — выше точки начала транскрипции (гл. 28).

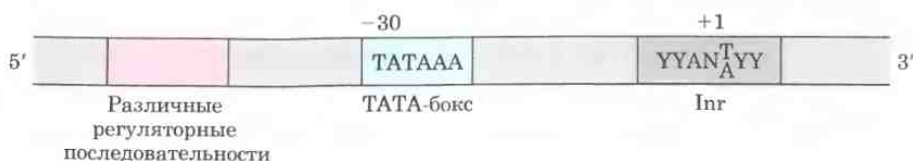


Рис. 26-9. Распространенные последовательности промоторов, распознаваемые эукариотической РНК-полимеразой II. Точкой сборки белков преинициаторных комплексов Pol II является ТАТА-бокс. ДНК в инициаторной последовательности или в непосредственной близости от нее. В представленной здесь консенсусной последовательности Inr N обозначает любой нуклеотид, а Y — пиримидиновый нуклеотид. Многие дополнительные последовательности служат участками связывания для большого числа белков, влияющих на активность Pol II. Эти последовательности важны для регуляции промоторов Pol II и значительно различаются по типу и количеству; как правило, промоторы эукариот намного сложнее, чем показано здесь (см. рис. 15-23 в т. 2). Многие последовательности расположены на расстоянии нескольких сотен пар оснований от ТАТА-бокса с 5'-стороны, другие могут быть удалены на тысячи пар оснований. Представленные здесь консенсусные последовательности эукариотических промоторов Pol II различаются намного сильнее, чем в промоторах *E. coli* (см. рис. 26-5). Во многих промоторах Pol II отсутствует либо ТАТА-бокс или элемент Inr, либо обе последовательности. Один или несколько транскрипционных факторов распознают дополнительные последовательности около ТАТА-бокса или ниже по последовательности (справа в данном случае).

Для проявления активности РНК-полимеразы II требуются другие белковые факторы

РНК-полимераза II играет ведущую роль в экспрессии эукариотических генов и поэтому активно изучалась. Хотя эта полимераза значительно сложнее своего бактериального аналога, за сложностью скрывается удивительная консервативность структуры, функции и механизма действия. Фермент Pol II из дрожжей имеет гигантский размер и состоит из 12 субъединиц. Самая крупная субъединица RBP1 обладает значительной гомологией с β'-субъединицей бактериальной РНК-полимеразы. Другая субъединица RBP2 по структуре похожа на бактериальную β-субъединицу, еще две субъединицы RBP3 и RP11 имеют некоторую структурную гомологию с двумя бактериальными α-субъединицами. Полимеразе Pol II приходится действовать в гораздо

более сложных геномах и взаимодействовать с гораздо более сложно упакованными молекулами ДНК, чем у бактерий. Дополнительная сложность полимеразы эукариот объясняется необходимостью ориентироваться в лабиринте из множества белковых факторов и вступать с ними в белок-белковые взаимодействия.

Самая крупная субъединица Pol II обладает необычным свойством: на С-конце она имеет длинную аминокислотную последовательность, состоящую из многократно повторяющейся консенсусной последовательности семи аминокислот –YSPSPS–. В ферменте дрожжей содержится 27 таких повторов (18 из них в точности соответствуют консенсусной последовательности), а в ферментах мыши и человека – по 52 повтора (21 точный). Этот С-концевой домен CTD (от англ. *carboxyl-terminal domain*) отделен от основного тела фермента неструктурированной линкерной последовательностью. Как показано

Таблица 26-2 Белки, необходимые для инициации транскрипции с промоторов РНК-полимеразы II (Pol II) у эукариот

Белок	Количество субъединиц	M_r субъединиц	Функции
Инициация			
Pol II	12	10 000–220 000	Катализирует синтез РНК
TBP (ТАТА-связывающий белок)	1	38 000	Распознает ТАТА-бокс
TFIIA	3	12 000, 19 000, 35 000	Стабилизирует связывание TFIIВ и TBP с промотором
TFIIВ	1	35 000	Связывается с TBP; собирает комплекс Pol II-TFIIF
TFIIE	2	34 000, 57 000	Собирает TFIIH; обладает АТРазной и хеликазной активностями
TFIIF	2	30 000, 74 000	Прочно связывается с Pol II; связывается с TFIIВ и препятствует неспецифическому связыванию Pol II с ДНК
TFIIH	12	35 000–89 000	Раскручивает ДНК у промотора (хеликазная активность); фосфорилирует Pol II (в CTD); собирает белки эксцизионной репарации
Элонгация^а			
ELL ^б	1	80 000	Фосфорилирует Pol II (в CTD)
pTEFb	2	43 000, 124 000	
SlI (TFIIS)	1	38 000	
Элонгин (SlII)	3	15 000, 18 000, 110 000	

^а Функция всех факторов элонгации заключается в преодолении остановки или прекращении транскрипции комплексом Pol II–TFIIF.

^б Сокращение от англ. *eleven-nineteen lysine-rich leukemia*. Ген ELL часто подвергается рекомбинации при остром миелоидном лейкозе.

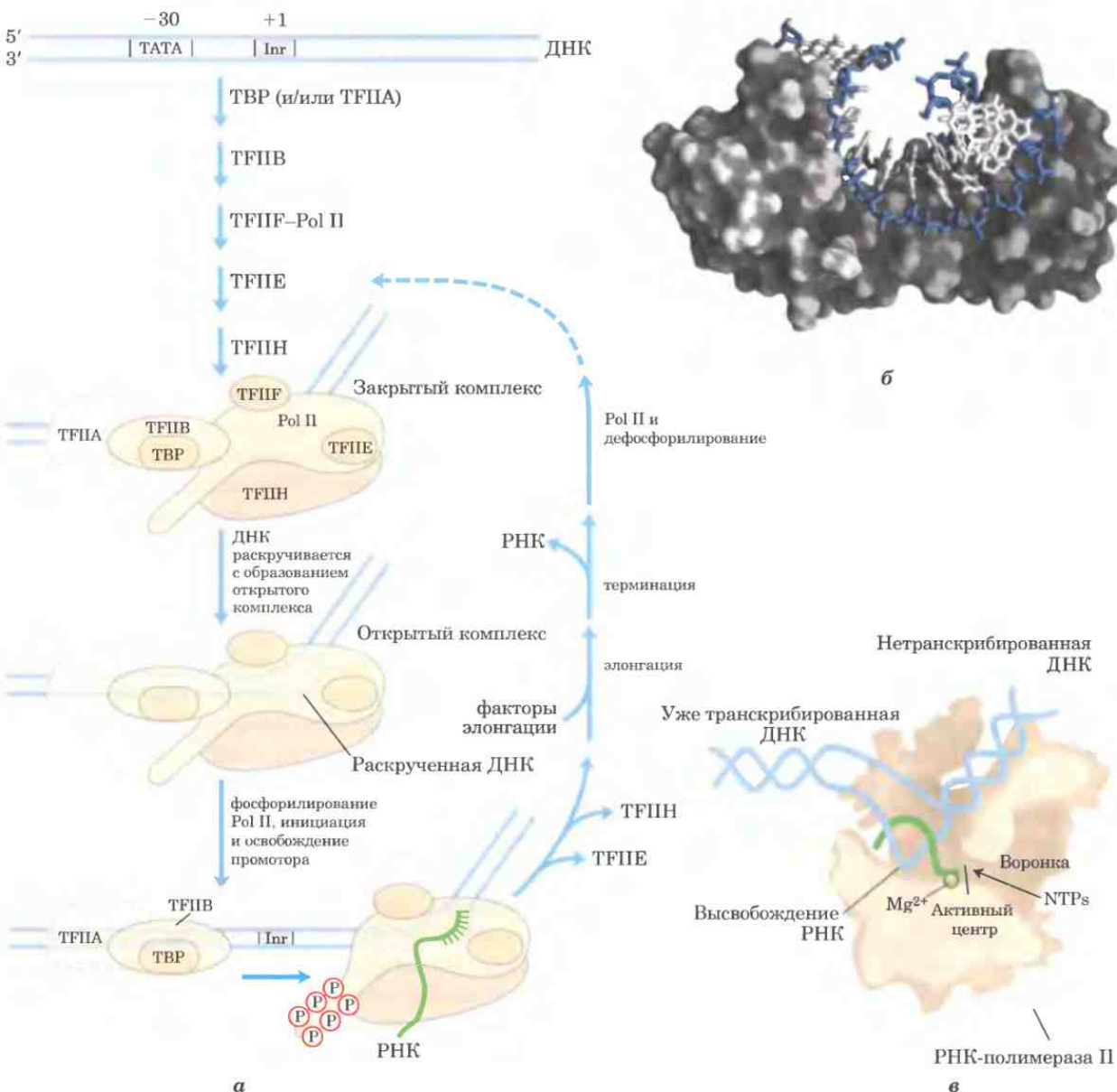


Рис. 26-10. Транскрипция с промоторов РНК-полимеразы II. *а* — последовательное присоединение TBP (часто вместе с TFIID), TFIIB, TFIIF, затем Pol II, TFIIE и TFIID приводит к формированию закрытого комплекса. Внутри комплекса происходит раскручивание ДНК в области Inr за счет активности TFIID и, возможно, TFIIE, что приводит к открытию комплекса. С-концевой домен самой крупной субъединицы Pol II фосфорилируется под действием TFIID, затем полимераза оставляет промотор и начинает транскрипцию. Элонгация сопровождается высвобождением многих факторов транскрипции и усиливается факторами элонгации (см. табл. 26-2). После терминации Pol II высвобождается, дефосфорилируется и может участвовать в новом синтезе. *б* — TBP человека (серый цвет) связан с ДНК (синий и голубой цвета) (PDB ID 1TGH). *в* — схема элонгации транскрипции, катализируемой ферментом полимеразы II.

ниже, CTD необходим для выполнения множества функций Pol II.

Для формирования активного транскрипционного комплекса РНК-полимеразы II нуждается в ряде других белков, называемых **факторами транскрипции**. **Основные факторы транскрипции** для каждого промотора Pol II (обычно обозначаются TFII с дополнительной идентификацией) достаточно консервативны у всех эукариот (табл. 26-2). В процессе транскрипции под действием фермента Pol II можно выделить несколько стадий: сборка, инициация, элонгация, терминация; на каждой стадии участвуют определенные белки (рис. 26-10). Шаг за шагом описанный ниже процесс приводит к активной транскрипции *in vitro*. В клетке многие белки могут присутствовать в виде более крупных предварительно организованных комплексов, облегчая сборку комплексов на промоторах. Факторы, участвующие в трансляции, перечислены на рис. 26-10 и в табл. 26-2.

Сборка РНК-полимеразы и факторов транскрипции на промоторе. Образование закрытого комплекса начинается с взаимодействия ТАТА-связывающего белка (ТВР) с ТАТА-боксом (рис. 26-10, б). В свою очередь ТВР связывается с фактором транскрипции TFIIВ, который тоже связывается с ДНК с обеих сторон от ТВР. Связывание TFIIА не всегда существенно, но может стабилизировать комплекс TFIIВ–ТВР на ДНК, что может иметь большое значение на неконсенсусных промоторах, где связывание ДНК с ТВР сравнительно слабое. Затем комплекс TFIIВ–ТВР соединяется с другим комплексом, состоящим из TFIIF и Pol II. Фактор TFIIF помогает точной стыковке Pol II с промотором, как путем взаимодействия с TFIIВ, так и путем ослабления связывания полимеразы с неспецифическим участками ДНК. Наконец, присоединяются TFIIЕ и TFIIН, и образуется закрытый комплекс. Фактор TFIIН обладает ДНК-хеликазной активностью и начинает раскручивание ДНК вблизи точки начала транскрипции РНК (процесс нуждается в гидролизе АТР), создавая открытый комплекс. С учетом всех субъединиц разных факторов (не считая TFIIА), этот минимальный активный комплекс состоит из 30 или более полипептидов. Структурные исследования, выполненные Роджером Корнбергом и его сотрудниками, позволили более детально

изучить строение кор-фермента РНК полимеразы II при элонгации (рис. 26-10, в).

Инициация цепи РНК и высвобождение промотора. На стадии инициации TFIIН выполняет дополнительную функцию. Киназная активность одной из его субъединиц фосфорилирует последовательность CTD в Pol II во многих местах (рис. 26-10, а). Несколько других протеинкиназ, включая CDK9 (циклин-зависимая киназа 9), которая является частью комплекса pTEFb (от англ. *positive transcription elongation factor b* — положительный фактор транскрипции и элонгации b), также фосфорилируют CTD, особенно остатки серина. Это приводит к конформационным изменениям всего комплекса и иницирует транскрипцию. Фосфорилирование CTD также имеет большое значение для следующей стадии элонгации, причем степень фосфорилирования CTD изменяется по мере продвижения транскрипции. Эти изменения влияют на взаимодействия между транскрипционным комплексом и другими ферментами, так что при инициации транскрипции в комплексе связаны другие белки, нежели на более поздних стадиях. Некоторые из этих белков участвуют в процессинге транскрипта (как описано ниже).

По мере синтеза первых 60–70 нуклеотидов сначала из комплекса выходит TFIIЕ, потом TFIIН, и Pol II начинает стадию элонгации.

Элонгация, терминация и высвобождение. На стадии элонгации TFIIF остается связанным с Pol II. На этой стадии активность полимеразы значительно усиливается белками, называемыми факторами элонгации (табл. 26-2). Факторы элонгации, некоторые из них связаны с фосфорилированным CTD, препятствуют остановке транскрипции, а также координируют взаимодействия между белковыми комплексами, вовлеченными в посттранскрипционный процессинг молекул мРНК. Как только синтез транскрипта РНК завершен, транскрипция прекращается. Полимераза II дефосфорилируется, после чего она готова иницировать транскрипцию другого участка (рис. 26-10, а).

Регуляция активности РНК-полимеразы II. Регуляция транскрипции под действием Pol II достаточно сложна. Она включает взаимодействие широкого круга белков с прединициаторным ком-

плексом. Некоторые из этих регуляторных белков взаимодействуют с факторами транскрипции, другие — с самой Pol II. Регуляция транскрипции более подробно рассматривается в гл. 28.

Различные функции ТФПН. У эукариот репарация поврежденной ДНК (см. табл. 25-5) более эффективна в активно транскрибируемых генах, чем в других поврежденных участках ДНК, и матричная цепь репарируется эффективнее нематричной цепи. Эти удивительные наблюдения объясняются тем, что субъединицы ТФПН выполняют и другие функции. Фактор ТФПН не только принимает участие в формировании закрытого комплекса в ходе сборки транскрипционного комплекса (как описано выше), но некоторые из его субъединиц также выступают важными компонентами независимого эксцизионного репарационного комплекса (см. рис. 25-26).

Когда транскрипция под действием полимеразы II приостанавливается из-за повреждения ДНК, ТФПН может связаться с поврежденным участком и собрать вокруг себя целый эксцизионный репарационный комплекс. У человека генетический дефект некоторых субъединиц ТФПН может привести к развитию заболеваний, например к пигментной ксеродерме (см. доп. 25-1) и синдрому Коккейна, которые характеризуются прекращением роста, повышенной светочувствительностью и неврологическими расстройствами. ■

Возможно селективное ингибирование ДНК-зависимой РНК-полимеразы

Элонгация цепей РНК под действием РНК-полимеразы и у бактерий, и у эукариот ингибируется антибиотиком **актиномицином D** (рис. 26-11). Плоская часть этой молекулы встраивается (ин-

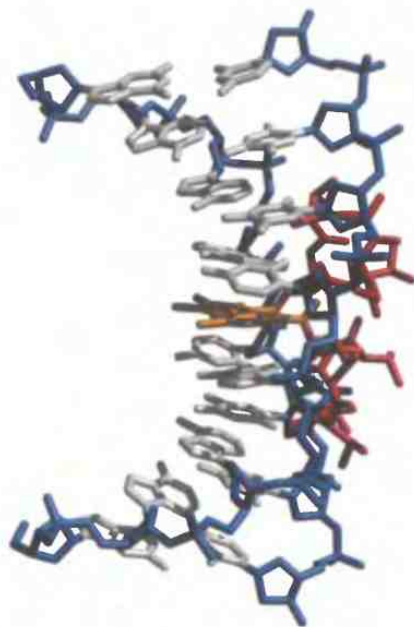
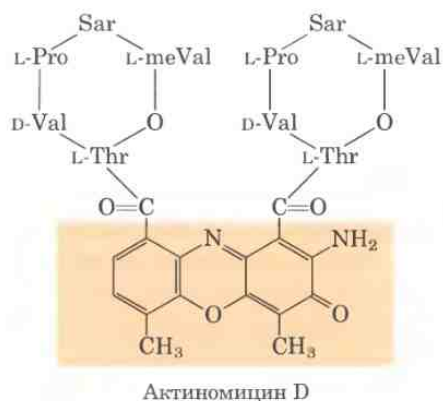


Рис. 26-11. Ингибиторы транскрипции ДНК актиномицин D и акридин. а — обведенная рамкой часть молекулы актиномицина D плоская и встраивается между двумя последовательно расположенными парами оснований G=C в дуплексной ДНК. Две циклические пептидные структуры актиномицина D связываются с малой бороздкой двойной спирали. Саркозин (Sar) — это N-метилглицин; meVal — метилвалин. Акридин также встраивается в ДНК. б — комплекс актиномицина D с ДНК (PDB ID 1DSC). Остов ДНК показан синим цветом, основания — серым, встроившаяся часть актиномицина (обведена рамкой на рис. а) — оранжевым цветом, оставшаяся часть актиномицина — красным. ДНК изогнута в результате связывания актиномицина.

теркалирует) в двойную спираль ДНК между расположенными друг за другом парами оснований $G=C$, вызывая деформацию ДНК. Это препятствует движению полимеразы вдоль матрицы. Поскольку актиномицин D ингибирует элонгацию РНК в интактных клетках, а также в клеточных экстрактах, его используют для идентификации клеточных процессов, связанных с синтезом РНК. **Акридин** ингибирует синтез РНК сходным образом (рис. 26-11).

Рифампицин подавляет синтез бактериальной РНК, связываясь с β -субъединицей бактериальных РНК-полимераз, препятствуя высвобождению промотора при транскрипции (рис. 26-6). Иногда его используют в качестве антибиотика.

Бледная поганка (*Amanita phalloides*) обладает очень эффективным механизмом защиты от животных. Она синтезирует **α -аманитин**, который прерывает образование мРНК в клетках животных, блокируя Pol II, а в высоких концентрациях и Pol III. Ни Pol I, ни бактериальная РНК-полимераза нечувствительны к α -аманитину, но главное, к нему нечувствительна РНК-полимераза II самого гриба *A. phalloides*!

Краткое содержание раздела 26.1

ДНК-ЗАВИСИМЫЙ СИНТЕЗ РНК

- Транскрипцию катализируют ДНК-зависимые РНК-полимеразы, которые используют рибонуклеозид-5'-трифосфаты для синтеза молекул РНК, комплементарных матричной цепи ДНК-дуплекса. Транскрипция осуществляется в несколько этапов: связывание РНК-полимеразы с промоторным участком ДНК, инициация синтеза транскрипта, элонгация и терминация.
- Для распознавания промотора бактериальная РНК-полимераза нуждается в специальной субъединице. Связывание РНК-полимеразы с промотором и инициация транскрипции тесно взаимосвязаны и составляют первый этап транскрипции. Транскрипция прекращается на последовательностях ДНК, называемых терминаторами.
- В эукариотических клетках есть три типа РНК-полимераз. Для связывания РНК-полимеразы II с ее промоторами необходимы

белковые факторы транскрипции. Факторы элонгации участвуют в фазе элонгации. Длинный С-концевой домен самой крупной субъединицы Pol II фосфорилирован на стадиях инициации и элонгации.

26.2. Процессинг РНК

Многие молекулы РНК бактерий и практически все молекулы РНК эукариот после синтеза подвергаются в той или иной степени процессингу. В метаболизме РНК интересные превращения происходят именно в ходе постсинтетического процессинга. Удивительно, что некоторые ферменты, катализирующие эти реакции, состоят из РНК, а не из белка. Открытие таких каталитических РНК, называемых **рибозимами**, произвело революцию в наших представлениях о функции РНК и о происхождении жизни.

Вновь синтезированная молекула РНК называется **первичным транскриптом**. Вероятно, наиболее интенсивному процессингу подвергаются первичные транскрипты мРНК эукариот и тРНК бактерий и эукариот. Молекулы РНК со специфическими функциями также подвергаются процессингу.

Первичные транскрипты эукариотических мРНК обычно содержат один ген, но последовательности, кодирующие полипептид, могут быть разделены другими фрагментами. Эти некодирующие участки, которые прерывают кодирующие последовательности, называют интронами, а кодирующие участки — экзонами (об интронах и экзонах в ДНК см. в гл. 24). В процессе **сплайсинга** интроны удаляются из первичного транскрипта, а экзоны соединяются с образованием непрерывной последовательности, которая соответствует функциональному полипептиду. Кроме того, модифицируются концы эукариотической мРНК. К 5'-концу присоединяется модифицированный остаток, называемый 5'-кэпом. 3'-Конец отщепляется, а взамен присоединяется последовательность из 80–250 остатков А, образующая поли(А)-«хвост». Иногда сложные белковые комплексы, которые принимают участие в каждой из этих трех реакций процессинга мРНК, действуют не самостоятельно, а связываются друг с другом и с фосфорилированной СТД-последовательностью Pol II; каждый комплекс влияет на функции

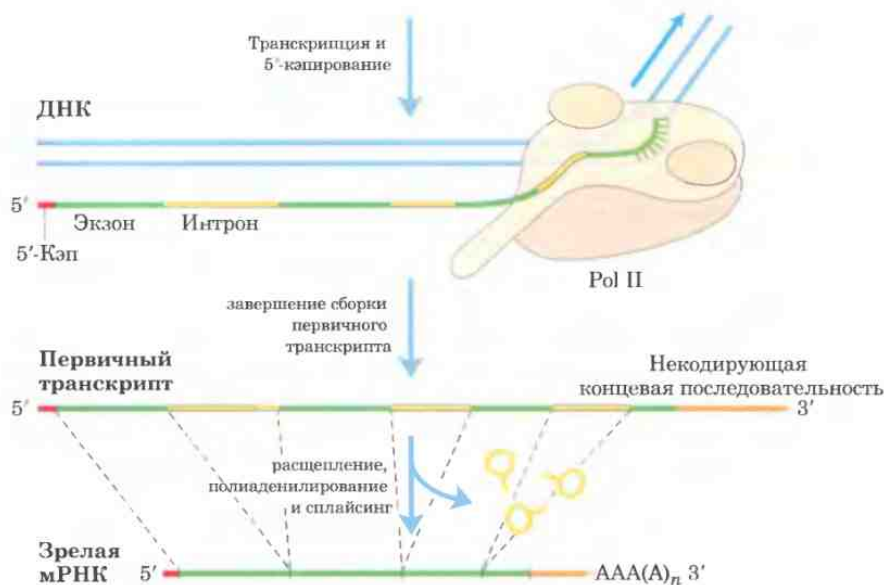


Рис. 26-12. Образование первичного транскрипта и его процессинг в ходе созревания мРНК в эукариотических клетках. Перед завершением синтеза первичного транскрипта на 5'-конце появляется кэп (показан красным цветом). Некодирующая последовательность (интрон), расположенная за последним экзоном, выделена оранжевым цветом. Сплайсинг может происходить либо до, либо после стадий расщепления и полиаденилирования. Все изображенные здесь процессы происходят в ядре.

других. Другие белки, участвующие в транспорте мРНК в цитоплазму, связаны с мРНК и в ядре, и процессинг транскрипта связан с его транспортом. В сущности, синтезированная эукариотическая мРНК находится в сложном многокомпонентном комплексе, состоящем из десятков белков. Состав комплекса изменяется по ходу процессинга первичного транскрипта, транспорта в цитоплазму и высвобождения мРНК на рибосоме для трансляции. Эти белковые комплексы модулируют активность и перемещение мРНК. Данные процессы отражены на [рис. 26-12](#) и подробнее описаны ниже.

Первичные транскрипты прокариотических и эукариотических тРНК в результате процессинга теряют концевые последовательности (отщепление), а иногда и интроны (сплайсинг). Многие основания и сахара в тРНК модифицируются; зрелая тРНК содержит много необычных оснований, которые не были обнаружены в других нуклеиновых кислотах (см. [рис. 26-23](#)). Многие РНК со специальной функцией также подвергаются сложному процессингу, часто с удалением фрагментов с одного или обоих концов последовательности.

Итак, все молекулы РНК подвергаются полному регулируемому расщеплению. Скорость оборота молекул РНК определяет их стационарное содержание в клетке и скорость, с которой клетки могут остановить экспрессию гена, в продукте которого больше не нуждаются. Например, в ходе развития многоклеточных организмов определенные белки экспрессируются только на одной стадии развития, и молекулы мРНК, кодирующие эти белки, образуются и разрушаются в строго определенное время.

К 5'-концу эукариотической мРНК присоединяется кэп

У эукариот в большинстве молекул мРНК имеется **5'-кэп** — остаток 7-метилгуанозина, связанный с 5'-концевым остатком мРНК через необычную 5',5'-трифосфатную связь ([рис. 26-13](#)). Функция 5'-кэпа — защита мРНК от рибонуклеаз. Кроме того, кэп соединяется со специфическим кэп-связывающим комплексом белков и участвует во взаимодействии мРНК с рибосомой для инициации трансляции (гл. 27).

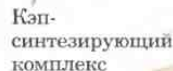


Рис. 26-13. 5'-Кэп на мРНК. *а* — почти во всех молекулах эукариотической мРНК к 5'-концу необычной 5',5'-трифосфатной связью присоединен остаток 7-метилгуанозина (m7G). Часто в положении 2' первого и второго нуклеотидов также обнаруживаются метильные группы (показаны розовым цветом). Молекулы РНК в клетках дрожжей не имеют 2'-метильных групп. Во втором нуклеотиде 2'-метильная группа обычно встречается только в РНК у позвоночных. *б* — формирование 5'-кэпа происходит за 4–5 отдельных стадий (adoHcy — S-аденозилгомоцистеин). *в* — синтез кэпа осуществляют ферменты, связанные с С-концевой последовательностью (CTD) полимеразы II. Кэп связан с CTD через кэп-связывающий комплекс (CBC).

5'-Кэп образуется путем конденсации молекулы GTP с трифосфатом на 5'-конце транскрипта. Затем гуанин метилируется по положению N-7, кроме того, метилированию часто подвергаются 2'-гидроксильные группы двух соседних с кэпом нуклеотидов (рис. 26-13, *а*). Метильные группы предоставляет S-аденозилметионин. Эти реакции происходят в самом начале транскрип-

ции после присоединения первых 20–30 нуклеотидов транскрипта. Пока кэп не синтезирован, все три осуществляющих кэпирование фермента и через них 5'-конец самого транскрипта ассоциированы с С-концевым доменом РНК-полимеразы II. Затем кэпированный 5'-конец освобождается от ферментов и соединяется с кэп-связывающим комплексом (рис. 26-13, в).

Из ДНК в РНК транскрибируются и интроны, и экзоны

У бактерий полипептидная цепь обычно коллинеарна кодирующей ее последовательности ДНК, которая составляет непрерывный отрезок матрицы ДНК, необходимый для точного воспроизведения полипептида. Однако идея о том, что *все* гены непрерывны, была опровергнута еще в 1977 г., когда Филипп Шарп и Ричард Робертс независимо друг от друга установили, что многие гены эукариот имеют прерывистое строение и содержат некодирующие последовательности (интроны).

Подавляющее большинство генов позвоночных содержат интроны; среди немногих исключений — гены гистонов. В других эукариотах ситуация может быть различной. Во многих генах дрожжей *Saccharomyces cerevisiae* интронов нет, но в других видах дрожжей интроны встречаются довольно часто. Интроны также обнаружены в нескольких генах бактерий и архей. Интроны в ДНК транскрибируются РНК-полимеразами вместе с остальными частями генов. Затем интроны вырезаются из первичного транскрипта в процессе сплайсинга, а экзоны соединяются с образованием зрелой функциональной РНК. В молекулах мРНК эукариот длина большинства экзонов не превышает 1000 нуклеотидов, размер многих составляет всего лишь от 100 до 200 нуклеотидов; эти экзоны кодируют

фрагменты из 30–60 аминокислот в составе более длинного полипептида. Интроны имеют размер от 50 до 20 000 нуклеотидов. Гены высших эукариот, включая человека, обычно содержат гораздо больше ДНК в составе интронов, чем в составе экзонов. Многие гены содержат интроны, в некоторых генах они исчисляются десятками.

РНК катализирует сплайсинг интронов

Существует четыре группы интронов. Интроны, относящиеся к группам I и II, различаются деталями механизма сплайсинга, но имеют одно общее удивительное свойство: они осуществляют *аутосплайсинг*, т. е. сплайсинг без участия ферментов белковой природы. Интроны группы I присутствуют в некоторых ядерных и митохондриальных генах и в генах хлоропластов, которые кодируют рРНК, мРНК и тРНК. Интроны группы II обычно обнаруживаются в первичных транскриптах мРНК митохондрий и хлоропластов у грибов, водорослей и растений. Интроны групп I и II также обнаружены у некоторых бактерий. Таким интронам для сплайсинга не требуются высокоэнергетические кофакторы (такие, как АТФ). Механизм сплайсинга в группах I и II включает две стадии трансэтерификации (рис. 26-14), в процессе которых 2'- или 3'-гидроксильные группы рибозы осуществляют

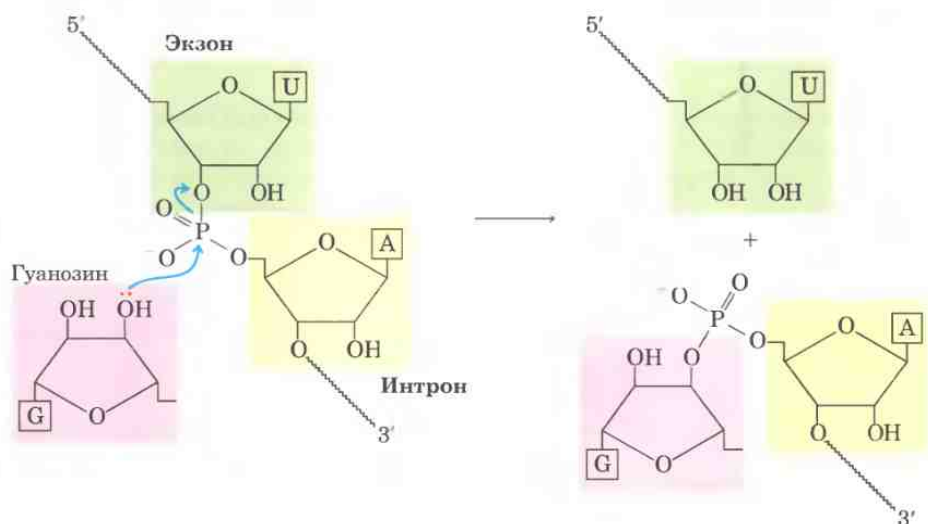


Рис. 26-14. Реакция трансэтерификации. Первая стадия сплайсинга интронов группы I. В данном примере 3'-ОН-группа молекулы гуанозина выступает в роли нуклеофила и атакует фосфодиэфирную связь между остатками U и A на стыке экзон–интрон в молекуле мРНК (см. рис. 26-15).

нуклеофильную атаку на атом фосфора, и вместо старой фосфодиэфирной связи образуется новая, поддерживая энергетический баланс. Эти реакции очень напоминают реакции разрыва и воссоединения ДНК, катализируемые топоизомеразами (см. рис. 24-21) и сайт-специфическими рекомбиназами (см. рис. 25-40).

Реакция сплайсинга интронов группы I протекает с участием гуанидинового нуклеотида или нуклеотидного кофактора, но кофактор используется не в качестве источника энергии: 3'-гидроксильная группа гуанозина выступает в роли нуклеофила на первом этапе сплайсинга. 3'-Гидроксильная группа гуанозина образует обычную 3',5'-фосфодиэфирную связь с 5'-концом интрона (рис. 26-15). Затем 3'-гидроксильная группа экзона, которая на этой стадии вытесняется, выступает в роли нуклеофила в похожей реакции на 3'-конце интрона. В результате происходит точное вырезание интрона и соединение концов экзонов.

Сплайсинг интронов группы II происходит по тому же принципу, только в качестве нуклео-

фила на первой стадии выступает 2'-гидроксильная группа остатка А *внутри* интрона (рис. 26-16). В качестве интермедиата образуется разветвленная структура в форме лассо (лариат).

Аутосплайсинг интронов впервые был обнаружен Томасом Чеком с сотрудниками в 1982 г. при изучении механизма сплайсинга интрона группы I в рРНК ресничного простейшего *Tetrahymena thermophila*. Исследователи транскри-



Томас Чек

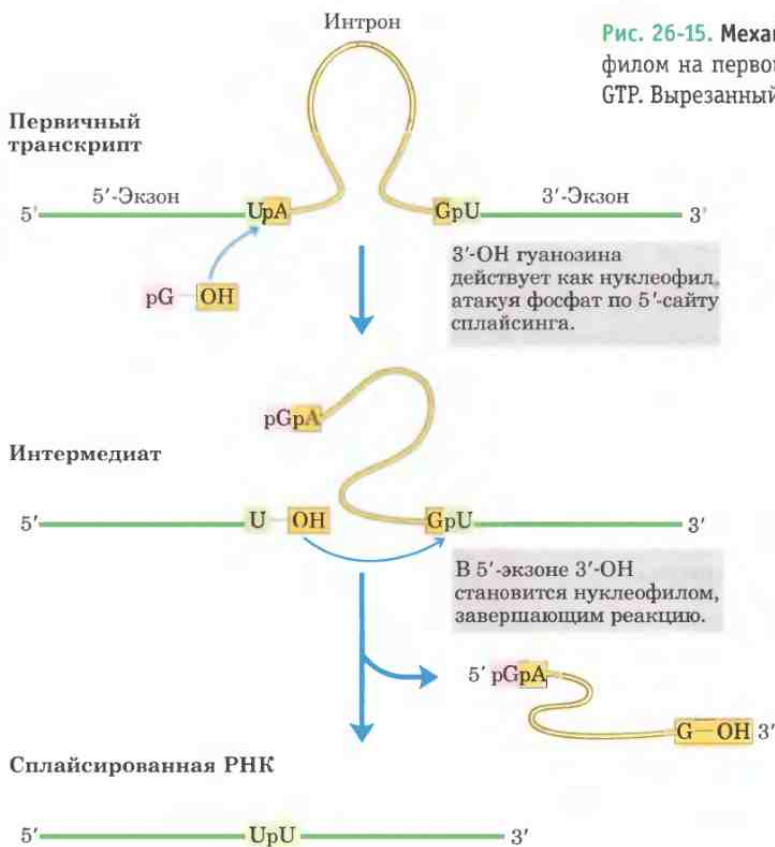


Рис. 26-15. Механизм сплайсинга интронов группы I. Нуклеофилом на первой стадии может быть гуанозин, GMP, GDP или GTP. Вырезанный интрон полностью распадается.

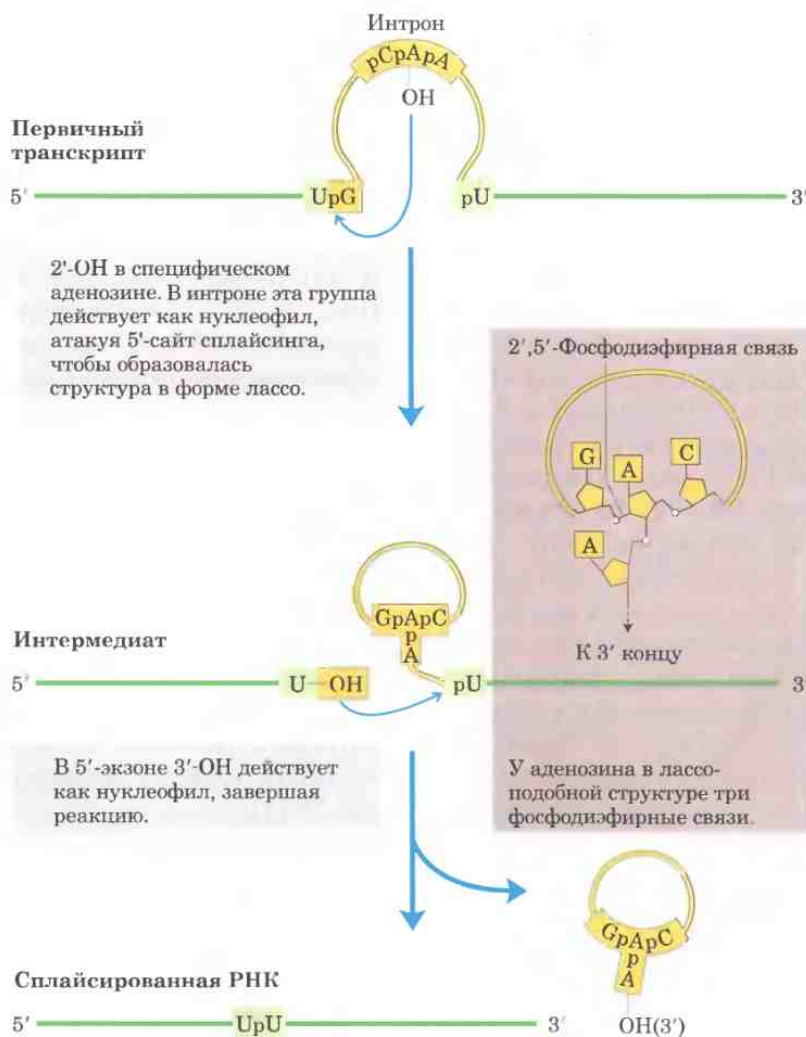


Рис. 26-16. Механизм сплайсинга интронов группы II. Химические принципы механизма в данном случае такие же, как и при сплайсинге интронов группы I. Отличие заключается в нуклеофиле на первой стадии и в образовании лассоподобного интермедиата, одна из ветвей которого представляет собой 2',5'-фосфодиэфирную связь.

бировали содержащую интрон ДНК *Tetrahymena* *in vitro*, используя очищенную бактериальную РНК-полимеразу. Сплайсинг РНК происходил с высокой точностью без участия ферментов *Tetrahymena*. Открытие молекул РНК с каталитическими функциями стало важным этапом в формировании нашего понимания устройства биологических систем.

Большинство интронов *не* подвергаются аутосплайсингу и не обозначаются групповыми номерами. Третья и самая обширная группа интронов обнаружена в первичных транскриптах ядер-

ной мРНК. Они называются **сплайсосомными интронами**, поскольку их удаление происходит внутри крупного белкового комплекса **сплайсосомы** и катализируется ею. Внутри сплайсосомы интроны вырезаются по тому же механизму, что и интроны группы II (через образование лариата). Сплайсосомы состоят из специализированных РНК-белковых комплексов — малых ядерных рибонуклеопротеинов (мяРНП). Каждый мяРНП содержит одну молекулу эукариотической РНК длиной 100–200 нуклеотидов, называемых малыми ядерными РНК (мяРНК). В реакциях сплай-

синга участвуют пять мРНК (U1, U2, U4, U5 и U6), которые обычно в большом количестве обнаруживаются в ядрах эукариот. Белки и РНК в мРНК высококонсервативны у всех эукариот (от дрожжей до человека). ■ **Сплайсинг мРНК**

Сплайсосомные интроны обычно имеют GU-последовательность на 5'-конце и AG-последовательность на 3'-конце. Эти последовательности указывают место сплайсинга. Молекула U1-мРНК содержит последовательность, комплементарную последовательностям вблизи 5'-концевого сайта сплайсинга интронов ядерной мРНК (рис. 26-17, а), и U1-мРНК связывается с этой областью в первичном транскрипте. Присоединение U2, U4, U5 и U6 приводит к формированию сплайсосомы (рис. 26-17, б). За счет мРНК сплайсосома получает пять молекул РНК и примерно 50 белков, надмолекулярная структура сплайсосомы почти такая же сложная, как у рибосомы (см. гл. 27). Еще примерно 50 белков связываются со сплайсосомой на разных стадиях сплайсинга, причем многие из этих белков участвуют в нескольких процессах, таких как сплайсинг, перенос мРНК в цитоплазму, трансляция и расщепление мРНК. Для сборки сплайсосомы требуется АТР, но реакции расщепления-лигирования РНК, по-видимому, в АТР не нуждаются. Некоторые интроны в мРНК удаляются с помощью менее распространенной сплайсосомы, в которой U1 и U2 заменены на U11 и U12. Сплайсосомы, содержащие U1 и U2, удаляют интроны с (5')GU- и AG(3')-концевыми последовательностями (см. рис. 26-16), а сплайсосомы, содержащие U11 и

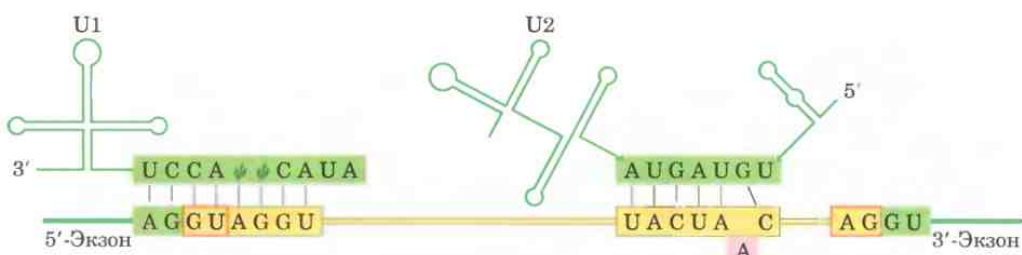
U12, вырезают редкие интроны группы с (5')AU- и AC(3')-концевыми последовательностями. Сплайсосомы, участвующие в сплайсинге ядерной РНК, могли эволюционировать из более древних интронов II группы, а мРНК заменили каталитические домены их самосплайсирующих предков.

Некоторые элементы аппарата сплайсинга вероятно, связаны с CTD РНК-полимеразы II, и это очень интересный механизм реакции (рис. 26-17, в). Когда синтезируется первый участок сплайсинга, он соединяется с CTD-«хвостом» сплайсосомы. Затем этим комплексом захватывается второй синтезированный участок сплайсинга, что облегчает сближение концов интрона и его вырезание. После сплайсинга интрон остается в ядре и в конце концов разрушается.

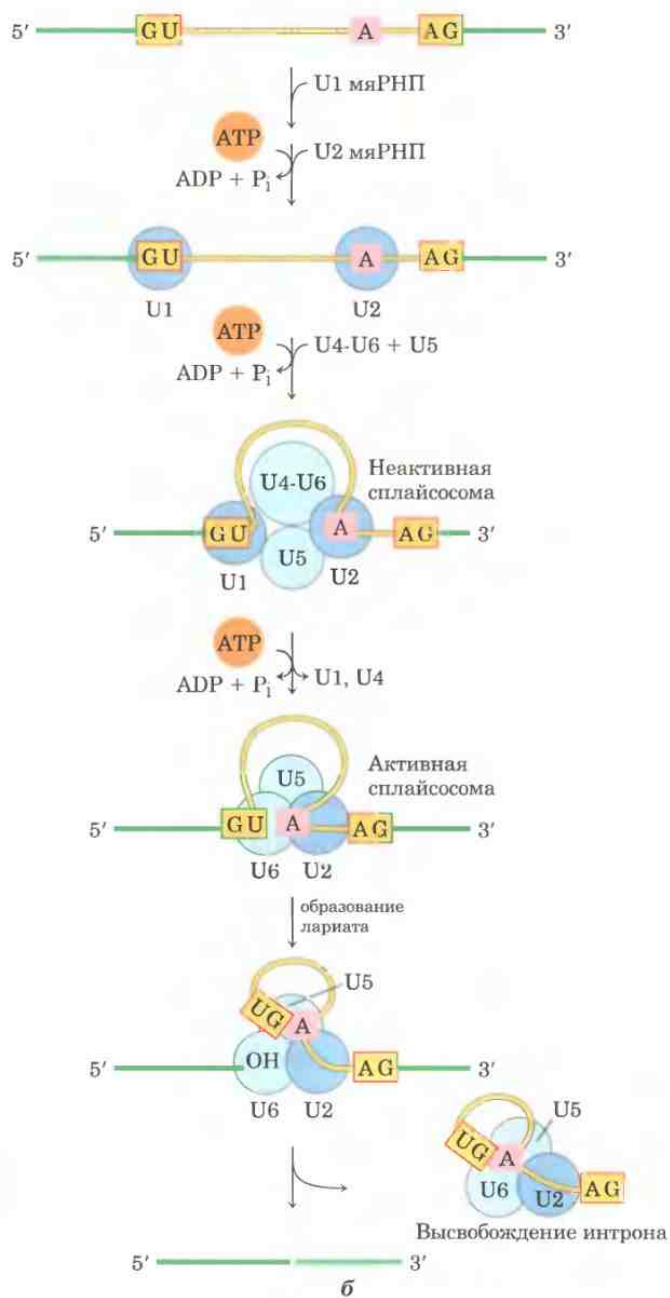
Интроны IV группы, найденные в некоторых тРНК, отличаются от интронов I и II групп тем, что для их сплайсинга требуются АТР и эндонуклеаза. Сплайсирующая эндонуклеаза расщепляет фосфодиэфирные связи на двух концах интрона, и два экзона соединяются по механизму, напоминающему реакцию ДНК-лигазы (см. рис. 25-17).

Сплайсосомные интроны встречаются, по-видимому, только у эукариот, а интроны других групп повсеместно. Гены с интронами I и II групп в настоящее время обнаружены и у бактерий, и у бактериальных вирусов. Бактериофаг Т4, например, содержит несколько генов с интронами I группы. Возможно, интроны чаще встречаются у архей, чем у бактерий.

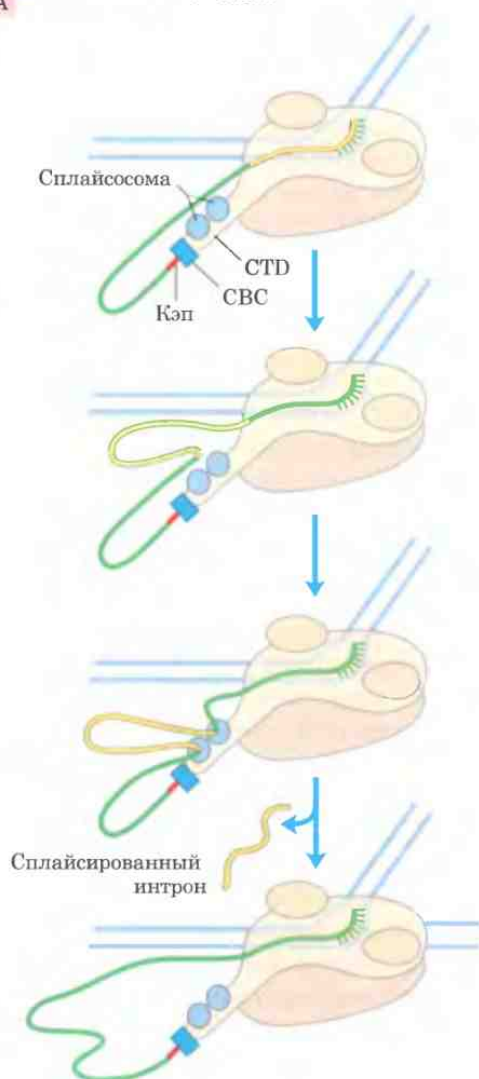
Рис. 26-17. Механизм сплайсинга в первичных транскриптах мРНК. а — спаривание участков РНК при формировании сплайсосомных комплексов. Вблизи 5'-конца U1-мРНК есть последовательность, комплементарная сайту сплайсинга на 5'-конце интрона. Спаривание оснований U1 с этим участком первичного транскрипта помогает выявить 5'-сайт сплайсинга при сборке сплайсосомы (ψ — псевдоуридин; см. рис. 26-24). Затем U2 связывается с участком интрона, содержащим остаток А (розовый), который осуществляет нуклеофильную атаку в реакции сплайсинга. При связывании U2-мРНК создается петля, которая перемещается и помогает активировать аденилат, 2'-ОН-группа которого может формировать лассоподобную структуру через 2',5'-фосфодиэфирную связь. б — сборка сплайсосомы. Сначала соединяются U1- и U2-мРНК, затем с ними связываются остальные мРНК (комплекс U4/U6 и U5) с образованием неактивной сплайсосомы. После внутренних перестроек этот комплекс преобразуется в активную сплайсосому, из которой исключаются U1 и U4, а U6 соединяется одновременно с 5'-сайтом сплайсинга и с U2. Затем следуют каталитические стадии, аналогичные каталитическим стадиям сплайсинга интронов II группы (см. рис. 26-15). в — координация сплайсинга с транскрипцией обеспечивает механизм сближения двух сайтов сплайсинга. Подробности см. в тексте.



a



б

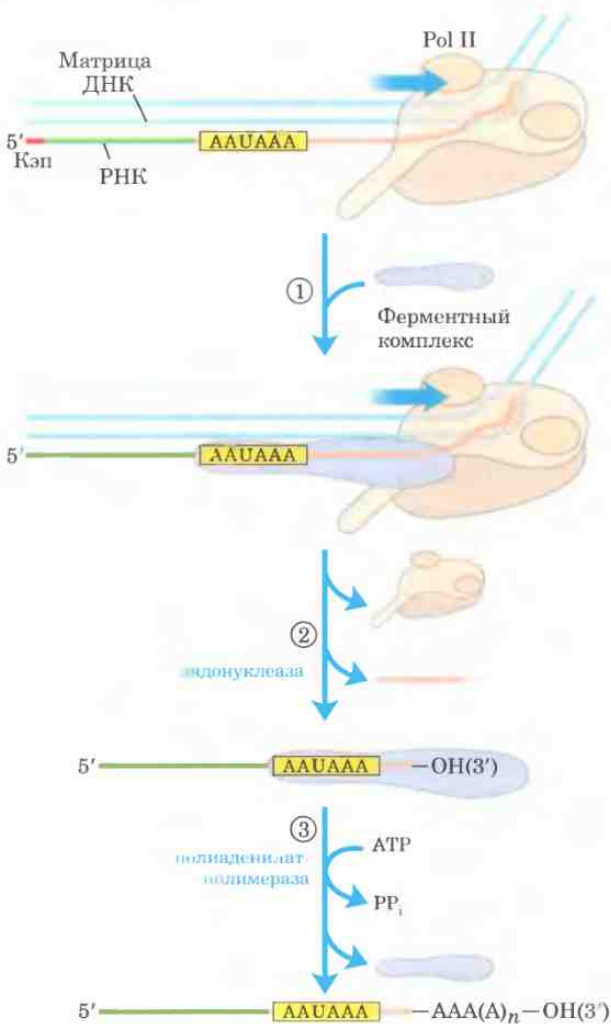


в

На 3'-конце молекулы мРНК имеются характерные структуры

У эукариот в большинстве молекул мРНК на 3'-конце располагается последовательность из 80–250 остатков аденина, образующих так называемый поли(А)-«хвост» (последовательность полиаденилирования). Этот «хвост» служит для связывания одного или нескольких специфических белков. Поли(А)-«хвост» и ассоциированные с ним белки, вероятно, помогают защитить мРНК от ферментативного расщепления. Многие молекулы мРНК прокариот также имеют поли(А)-«хвосты», но эти «хвосты» скорее стимулируют распад мРНК, чем защищают ее от расщепления.

Присоединение поли(А)-«хвоста» — многоэтапный процесс. Транскрипт синтезируется дальше границы участка, к которому должен быть добавлен «хвост», а потом расщепляется



по этому положению с помощью эндонуклеазной активности крупного ферментного комплекса, связанного с СТД РНК-полимеразы II (рис. 26-18). Участок мРНК, по которому происходит расщепление, содержит два характерных элемента: консервативную последовательность (5')AAUAAA(3'), расположенную на 10–30 нуклеотидов выше точки расщепления (ближе к 5'-концу), и менее охарактеризованную последовательность, содержащую много остатков G и U, на расстоянии 20–40 нуклеотидов ниже точки расщепления. При расщеплении образуется свободная 3'-гидроксильная группа на конце мРНК, к которому полиаденилатполимераза немедленно присоединяет остатки А по реакции



где $n = 80 \div 250$. Этот фермент не нуждается в матрице, но в качестве праймера использует расщепленную мРНК.

Весь комплекс реакций процессинга типичной эукариотической мРНК представлен на рис. 26-19. В некоторых случаях кодирующая область мРНК тоже подвергается «редактированию» (подробнее см. разд. 27.1). Это могут быть реакции внесения или удаления оснований в кодирующих областях первичных транскриптов или изменения последовательности (например, ферментативное дезаминирование остатка С, приводящее к образованию остатка U). Один из удивительных примеров — процессинг у паразитических простейших трипаносом: длинные последовательности их мРНК синтезируются вообще без уридилата, а остатки U встраиваются позднее в процессе редактирования.

Рис. 26-18. Добавление поли(А)-«хвоста» к первичному транскрипту РНК у эукариот. Pol II синтезирует РНК, продвигаясь дальше сигнальных последовательностей, указывающих участок расщепления, включая консервативную последовательность (5')AAUAAA, расположенную выше точки расщепления. 1 Сигнальная последовательность связывается с ферментным комплексом, в состав которого входит эндонуклеаза, полиаденилатполимераза и несколько других мультисубъединичных белков, участвующих в распознавании последовательности, облегчении расщепления и регуляции длины поли(А)-«хвоста». 2 РНК ниже (в направлении к 3'-концу) последовательности AAUAAA расщепляется эндонуклеазой на 10–30 нуклеотидов. 3 Полиаденилатполимераза синтезирует поли(А)-«хвост» длиной 80–250 нуклеотидов, начиная с места расщепления транскрипта.

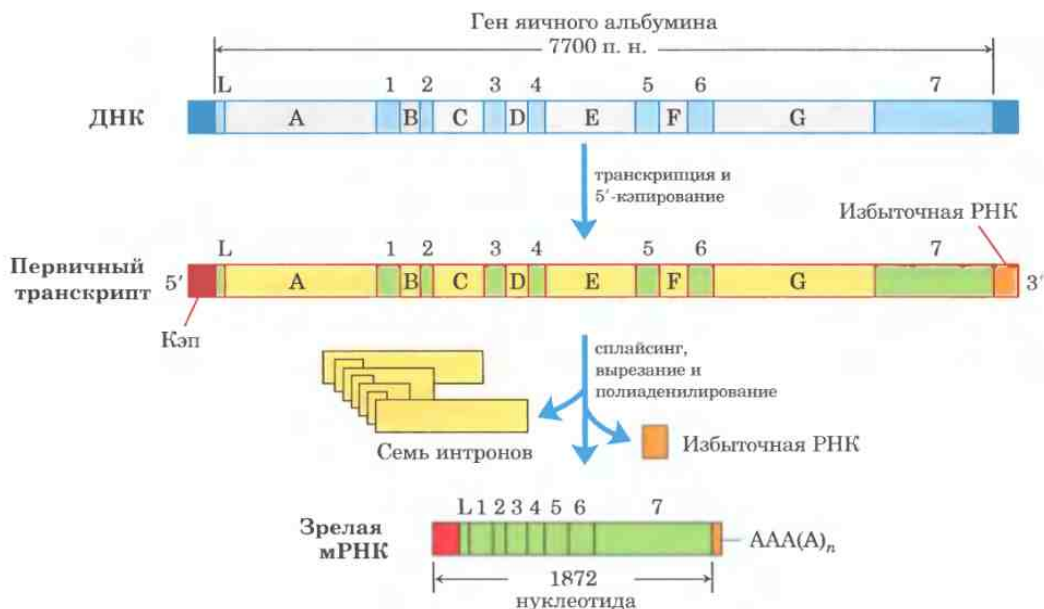


Рис. 26-19. Схема процессинга эукариотической мРНК. Ген яичного альбумина содержит интроны от А до G и экзоны от 1 до 7, а также последовательность L (L кодирует сигнальный пептид, направляющий белок за пределы клетки; см. рис. 27-34). В ходе процессинга удаляется примерно три четверти РНК. До остановки транскрипции Pol II успевает синтезировать первичный транскрипт значительно дальше участка расщепления и сайта полиаденилирования (избыточная РНК). Сигналы терминации для Pol II пока не обнаружены.

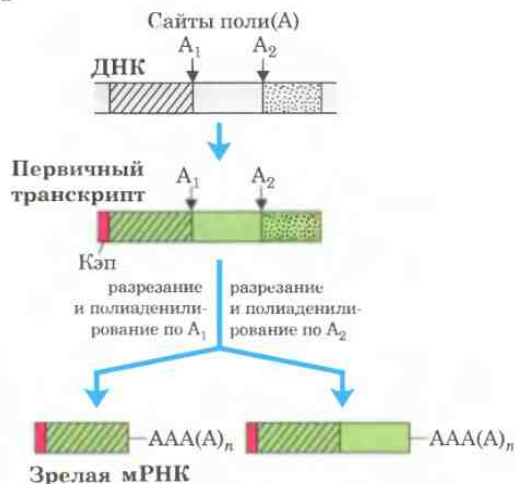
Альтернативный процессинг РНК приводит к образованию нескольких продуктов одного гена

Один из парадоксов современной геномики заключается в том, что сложность организмов никак не коррелирует с количеством генов, кодирующих белки, или даже с количеством геномной ДНК (с. 460 в т. 1). Однако при традиционном подходе, когда основное внимание уделяется генам белков, не учитывается сложность транскриптома организма. По мере расширения наших знаний о функциях РНК в строении генома выявляются новые сложные элементы.

Из некоторых транскриптов эукариотических мРНК образуется только одна зрелая мРНК и один соответствующий полипептид, но процессинг других может происходить несколькими способами и приводить к образованию *различных* мРНК и различных полипептидов. Первичный транскрипт содержит молекулярные сигналы для всех альтернативных путей процессинга, а предпочтительный для данной клетки путь определяется факторами процессинга — РНК-связывающими белками, которые запускают один конкретный путь.

Сложные транскрипты могут иметь либо более одного сайта расщепления и полиаденилирования, либо альтернативные сайты сплайсинга, либо и то, и другое. При наличии двух или нескольких сайтов расщепления и полиаденилирования, чем ближе к 5'-концу выбирается сайт, тем большая часть последовательности первичного транскрипта удаляется (**рис. 26-20, а**). Такой механизм, называемый выбором сайта поли(А), создает разнообразие вариабельных доменов тяжелых цепей иммуноглобулинов (см. рис. 25-46). Путем альтернативного сплайсинга на разных стадиях развития плодовой мушки (**рис. 26-20, б**) из общего первичного транскрипта образуются три разные формы тяжелой цепи миозина. Альтернативные варианты процессинга РНК могут использоваться *одновременно* для синтеза двух разных гормонов: регулирующего кальциевый обмен гормона кальцитонина в щитовидной железе крысы и пептида, связанного с геном кальцитонина (CGRP) в мозге крысы (**рис. 26-21**). Существует множество других вариантов альтернативного сплайсинга (**рис. 26-22**). Многие гены в геноме млекопитающих (возможно, большинство) подвергаются альтернативному сплайсингу.

а



б

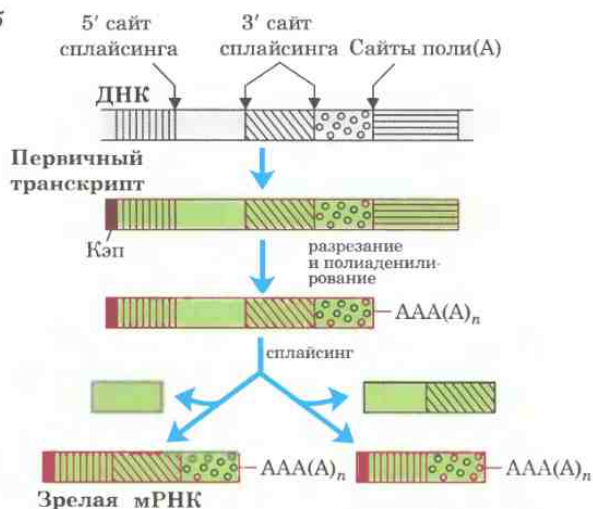


Рис. 26-20. Два механизма альтернативного процессинга сложных транскриптов у эукариот. а — альтернативные варианты расщепления и полиаденилирования. Показаны два сайта полиаденилирования — A₁ и A₂. б — альтернативные способы сплайсинга. Показаны два разных 3'-концевых сайта расщепления. Оба механизма позволяют получить разные зрелые мРНК с одного и того же транскрипта.

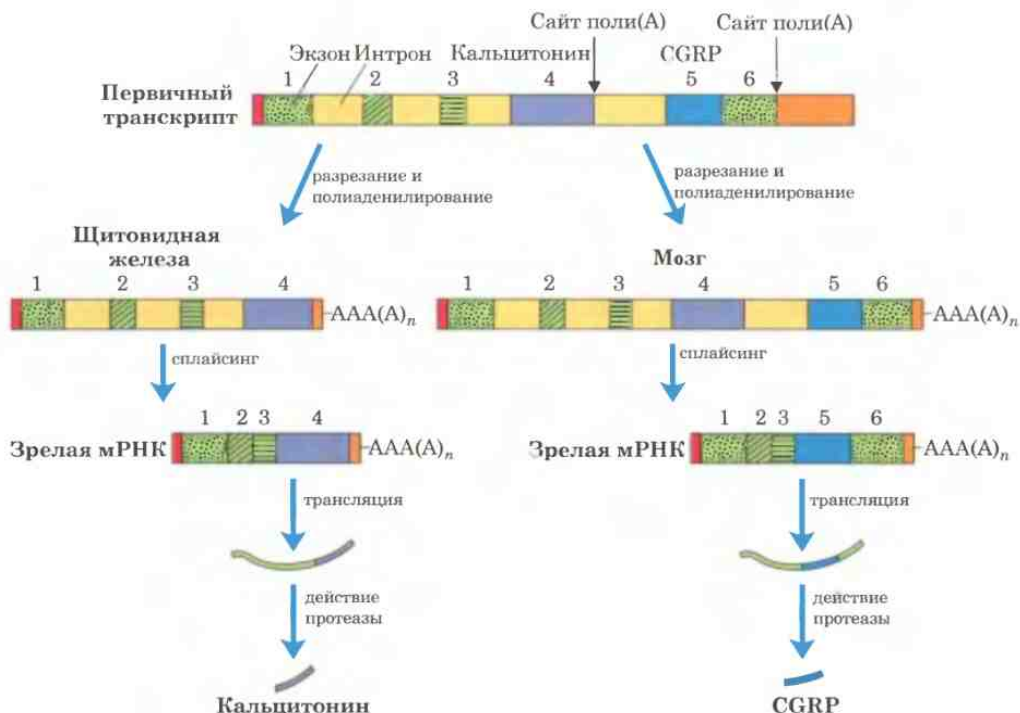


Рис. 26-21. Альтернативный процессинг транскрипта гена кальцитонина у крыс. Первичный транскрипт содержит два сайта полиаденилирования; один чаще используется в клетках мозга, другой — в щитовидной железе. В мозге при сплайсинге элиминируется экзон кальцитонина (экзон 4); в щитовидной железе этот экзон остается. Образующиеся пептиды процессируются далее с образованием конечных гормонов: связанного с геном кальцитонина пептида (CGRP) в мозге крысы и кальцитонина в щитовидной железе.

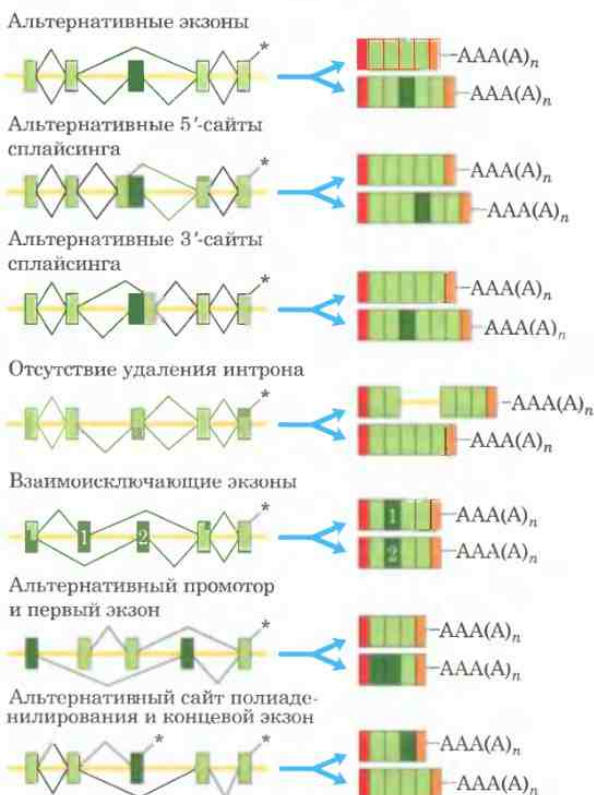


Рис. 26-22. Общая схема альтернативного сплайсинга. Экзоны изображены в виде светло- и темно-зеленых прямоугольников, а интроны и нетранслируемые области — в виде желтых линий. Звездочками отмечены позиции, по которым должен присоединяться полиаденозин. Черными линиями в левой части схемы обозначены возможные варианты соединения экзонов, приводящие к соответствующим мРНК (в правой части схемы). Варианты соединения показанные выше и ниже транскрипта, образуют верхний или нижний продукт соответственно. Красными и оранжевыми прямоугольниками обозначены 5'-кэпы и 3'-нетранслируемые области соответственно.

что значительно увеличивает количество кодируемых генами белков. Этот процесс у низших эукариот играет гораздо менее заметную роль, к примеру у дрожжей лишь несколько генов подвергаются альтернативному сплайсингу.

Молекулы рРНК и тРНК также подвергаются процессингу

Посттранскрипционному процессингу подвергается не только мРНК. Рибосомные РНК в клетках прокариот, архей и эукариот образуются из более длинных предшественников, называемых

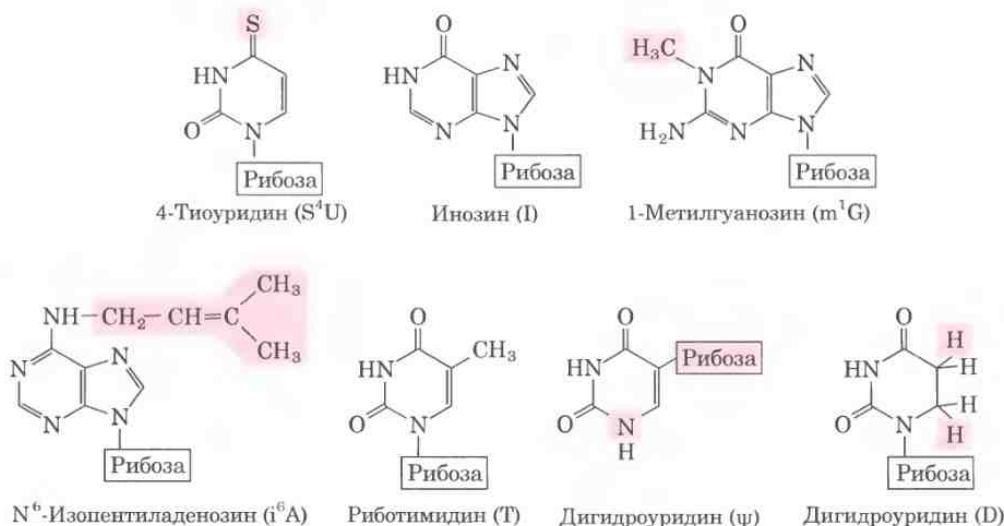


Рис. 26-23. Некоторые модифицированные основания в рРНК и тРНК, возникающие в ходе посттранскрипционных реакций. В скобках указаны сокращенные названия оснований. Обратите внимание на необычное место присоединения рибозы в псевдоуридине. Здесь представлено лишь несколько примеров из 96 известных модификаций нуклеотидов, обнаруженных в различных РНК (на данный момент известен 81 тип модификаций в тРНК и 30 типов в рРНК). Полный список модифицированных оснований можно найти в базе данных по модификациям РНК (<http://mods.rna.albany.edu/mods/>).

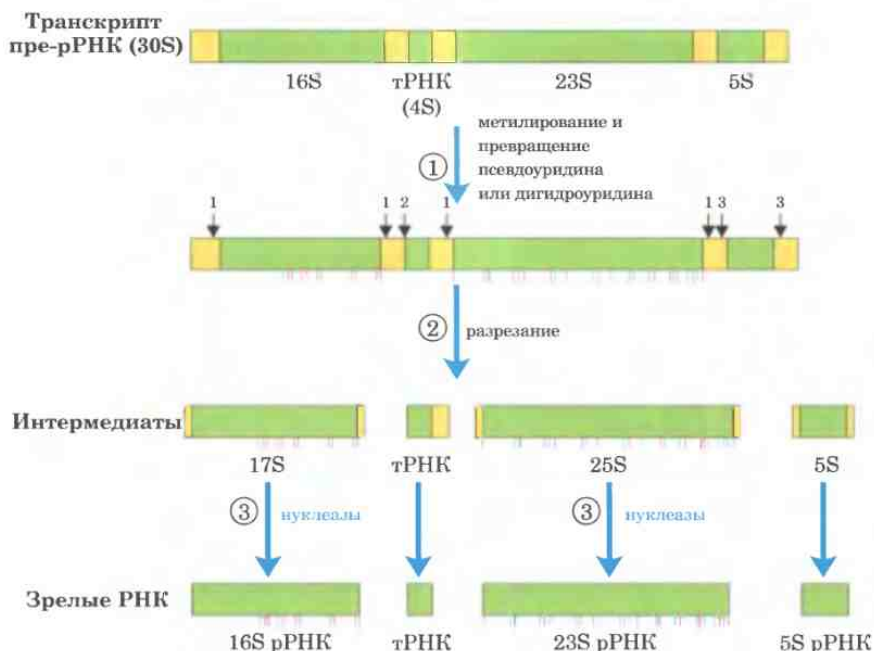


Рис. 26-24. Процессинг транскриптов пре-РНК у бактерий. ① Перед расщеплением предшественник 30S РНК метилируется по определенным основаниям (красные черточки), а некоторые остатки уридина превращаются в псевдоуридин (синие черточки) или дигидроуридин (черные черточки). Метилированию иногда подвергаются основания или же 2'-гидроксильные группы. ② При расщеплении высвобождаются предшественники рРНК и тРНК. Расщепление в точках 1, 2 и 3 осуществляют ферменты РНКазы III, РНКазы Р и РНКазы Е соответственно. Как объясняется далее, РНКазы Р представляет собой рибозим. ③ Конечные продукты 16S, 23S и 5S рРНК образуются в результате действия разных специфических нуклеаз. Семь копий гена пре-рРНК в хромосоме *E. coli* различаются числом, расположением и типом входящих в первичный транскрипт тРНК. Некоторые копии гена несут дополнительные участки гена тРНК между сегментами 16S и 23S рРНК, а также на 3'-конце первичного транскрипта.

прерибосомными РНК или пре-рРНК. Транспортные РНК тоже происходят из более длинных предшественников. Эти молекулы РНК также могут содержать различные модифицированные нуклеозиды; некоторые примеры представлены на [рис. 26-23](#).

Рибосомные РНК. У бактерий 16S, 23S и 5S рРНК (а также некоторые тРНК, хотя большинство тРНК кодируются в другом месте) образуются из единого предшественника — 30S РНК длиной около 6500 нуклеотидов. При процессинге от 30S РНК удаляются концевые фрагменты, а также участки между последовательностями рРНК ([рис. 26-24](#)). В 16S и 23S рРНК содержатся модифицированные нуклеозиды. У *E. coli* обнаружено 11 модификаций в последовательности 16S рРНК:

один псевдоуридин и 10 нуклеозидов, метилированных по основанию и/или по 2'-гидроксильной группе. В 23S рРНК содержится 10 псевдоуридинов, один дигидроуридин и 12 метилированных нуклеозидов. У бактерий каждую модификацию обычно катализирует особый фермент. В реакции метилирования в качестве кофактора используется S-аденозинметионин. Для образования псевдоуридина кофакторов не требуется.

В геноме *E. coli* закодировано семь молекул пре-рРНК. Все эти гены имеют похожие рРНК-кодирующие области, но участки, расположенные между ними, различаются. На участке между генами 16S и 23S рРНК обычно закодирована одна или две молекулы тРНК, причем из разных пре-рРНК транскриптов получают разные тРНК. Последовательности, кодирующие моле-

кулы тРНК, также были обнаружены на 3'-конце 5S рРНК в некоторых первичных транскриптах.

У эукариот ситуация сложнее. РНК-полимераза I синтезирует транскрипт 45S пре-рРНК, который в ядрышке расщепляется на 18S, 28S и 5,8S рРНК, характерные для эукариотических рибосом (рис. 26-25). Как и у бактерий, процессинг включает в себя реакции расщепления под действием эндо- или экзонуклеаз, а также реакции модификации нуклеозидов. В некоторых пре-рРНК есть интроны, которые нужно вырезать. Процесс в целом инициируется в ядрышке, в больших комплексах, собирающихся на предшественнике рРНК по мере его синтеза под действием Pol I. Существует тесная связь между транскрипцией рРНК, созреванием рРНК и сборкой рибосом в ядрышке. В каждом комплексе содержатся рибонуклеазы, расщепляющие предшественников рРНК, ферменты, модифицирующие определенные основания, большое количество малой ядрышковой РНК (мякРНК), направляющей модификацию нуклеозидов и некоторые реакции расщепления, а также рибосомные белки. У дрожжей в процессе участвуют пре-рРНК, более 170 нерибосомных белков, мякРНК для модификации каждого нуклеотида (всего ~70, поскольку некоторые опосредуют два типа модификаций), а также 78 рибосомных белков. У человека обнаружено еще больше модифицированных нуклеозидов — около 200, и, следовательно, больше соответствующих мякРНК. В ходе сборки рибосом состав комплексов может изменяться, и многие промежуточные комплексы не уступают по сложности самой рибосоме и мякРНК. У большинства эукариот 5S рРНК образуется другой полимеразой (Pol III) в виде независимого транскрипта.

При модификации нуклеозидов в эукариотической рРНК чаще всего происходят превращения уридина в псевдоуридин и *adMet*-зависимое метилирование (как правило, по 2'-гидроксильной группе). Эти реакции опосредованы комплексами **мякРНК** — комплексами белков с мякРНК, состоящими из мякРНК и четырех или пяти белков, в том числе и осуществляющего модификацию фермента. Существует два класса таких комплексов, различающихся ключевыми консервативными элементами последовательности (боксами). Комплексы с боксом H/ACA участвуют в образовании псевдоуридина,

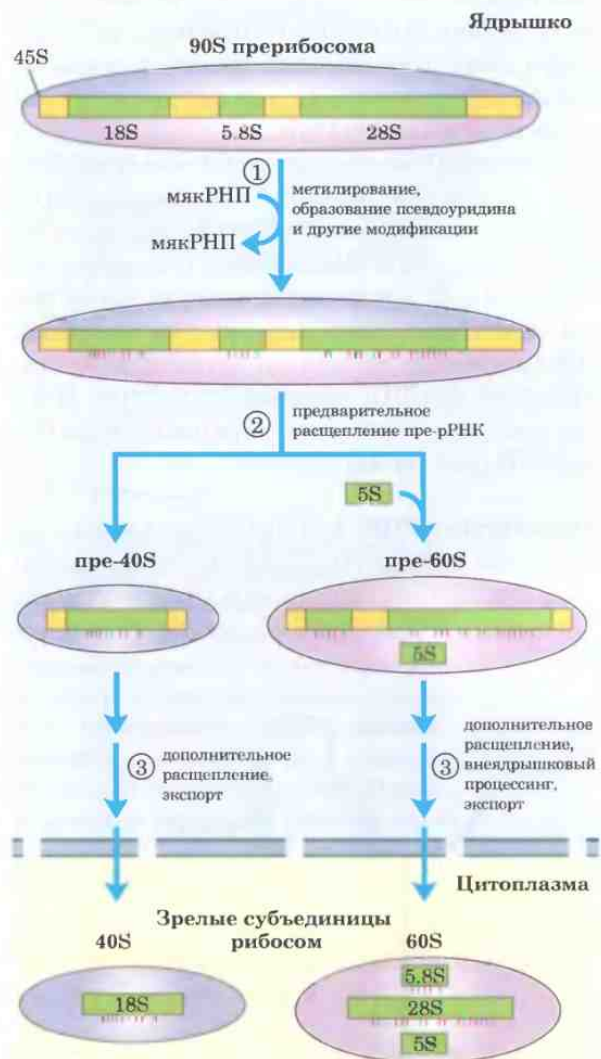


Рис. 26-25. Процессинг транскриптов пре-РНК у позвоночных. В ходе транскрипции первичный транскрипт 45S включается в ядрышковый прерибосомный комплекс 90S, в котором происходит сопряжение процессинга рРНК и сборки рибосом. ① Предшественник 45S метилируется более чем по 100 нуклеотидам из 14 000 (по основаниям или по 2'-ОН-группам), несколько остатков уридина превращаются в псевдоуридин, а также происходит некоторые другие модификации. ② Серия ферментативных расщеплений 45S приводит к образованию 18S, 5,8S и 28S рРНК, и постепенно при присоединении рибосомных белков начинают формироваться субъединицы рибосом. В реакциях расщепления и всех реакциях модификации участвует малая ядрышковая РНК (мякРНК), входящая в состав белковых комплексов (мякРНК) в ядрышке, напоминающих сплайсосомы. Молекулы 5S рРНК образуются независимо.

а комплексы с боксом C/D — в метилировании по 2'-ОН-группе. В отличие от бактерий у эукариот один и тот же фермент может участвовать в модификациях различных участков под руководством соответствующих мякРНК.

Эти мякРНК состоят из 60–300 нуклеотидов. Многие закодированы в интронах других генов и транскрибируются совместно с этими генами. Каждая мякРНК содержит последовательность из 10–21 нуклеотидов, которая полностью комплементарна определенному участку рРНК. Консервативные последовательности в остальной части мякРНК образуют структуры, которые связываются с соответствующими белками в мякРНП (рис. 26–26).

Транспортные РНК. В большинстве клеток синтезируется от 40 до 50 различных тРНК, причем эукариотические клетки содержат множество копий многих генов тРНК. Молекулы транспорт-

ной РНК образуются из более длинных предшественников путем ферментативного удаления нуклеотидов с 5'- и 3'-концов (рис. 26–27). У эукариот в транскриптах нескольких тРНК присутствуют интроны, которые должны быть удалены. Если в одном первичном транскрипте содержатся две или несколько разных тРНК, они разделяются путем ферментативного расщепления. Эндонуклеаза РНКазы Р, обнаруженная у всех организмов, удаляет РНК с 5'-конца молекул тРНК. Этот фермент содержит и белок, и РНК. РНК-компонент необходим для проявления ферментативной активности, и в бактериальных клетках фермент может осуществлять процессинг даже без участия белкового компонента. Таким образом, РНКазы Р — еще один пример каталитических РНК, действие которых более подробно рассматривается ниже. 3'-Конец молекул тРНК модифицируется одной или несколькими нуклеазами, в том числе экзонуклеазой РНКазой D.

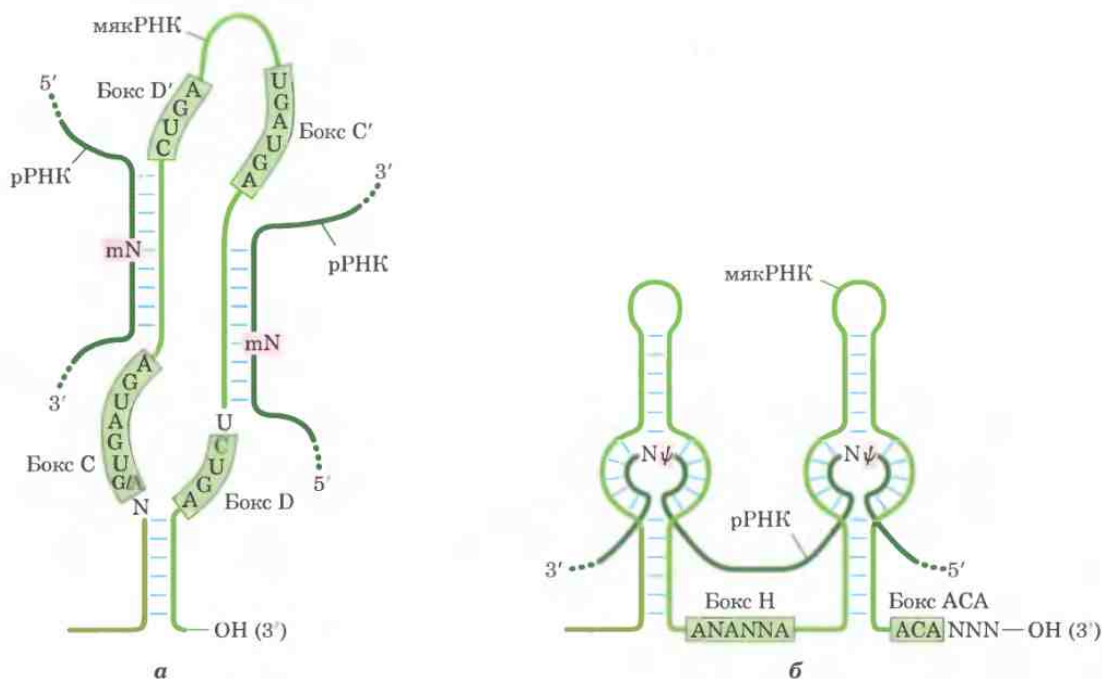


Рис. 26–26. Роль мякРНК в модификации рРНК. а — для осуществления реакций метилирования РНК спаривается с мякРНК с боксом C/D. Участки метилирования в рРНК-мишени (темно-зеленые) расположены в области спаривания с C/D-боксом мякРНК. Высококонсервативные последовательности боксов C и D (а также C' и D') являются участками связывания белков, составляющих наиболее крупный комплекс мякРНП. б — РНК спаривается с мякРНК с боксом H/ACA для превращения уридина в псевдоуридин. Участки превращения уридина в псевдоуридин в рРНК-мишени (зеленые) также находятся в областях, спаривающихся с мякРНК, а консервативные последовательности H/ACA-боксов являются участками связывания белков.

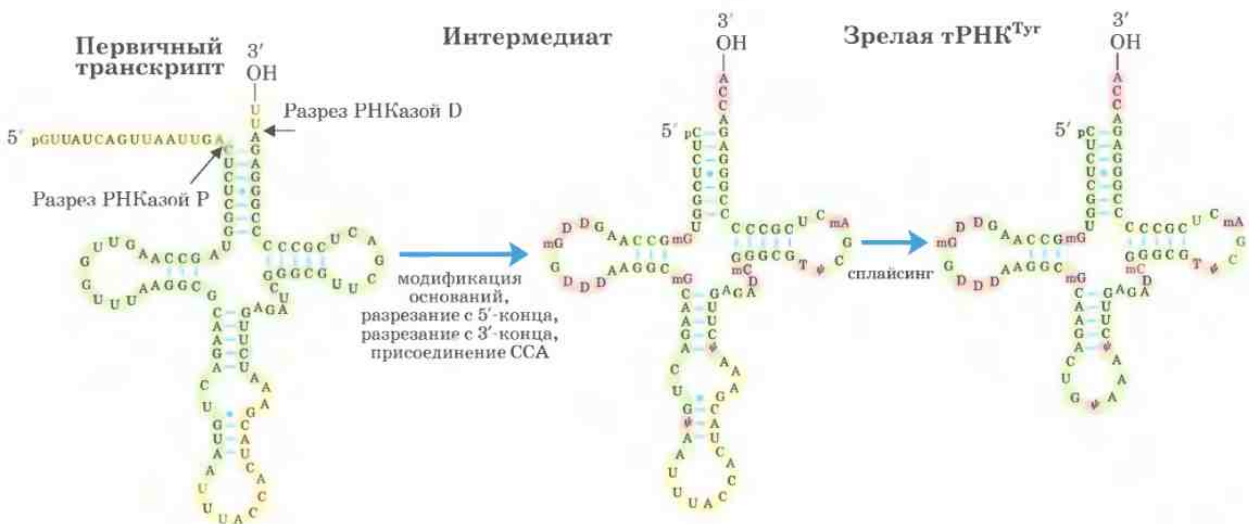


Рис. 26-27. Процессинг тРНК у бактерий и эукариот. Проиллюстрируем важные этапы процессинга на примере дрожжевой тРНК^{Tyr} (тРНК, специфически связывающая тирозин; см. гл. 27). Нуклеотидная последовательность, показанная желтым цветом, удаляется из первичного транскрипта. Сначала происходит процессинг концов: в первую очередь 5'-конца, затем 3'-конца. Потом к 3'-концу присоединяется последовательность ССА; эта стадия необходима в процессинге эукариотической тРНК и тех бактериальных тРНК, которые не имеют этой последовательности в первичном транскрипте. Одновременно с процессингом концов происходит модификация специфических оснований в оставшейся части транскрипта (рис. 26-23). Для показанной здесь эукариотической тРНК заключительная стадия — сплайсинг интрона из 14 нуклеотидов. Интроны встречаются в некоторых эукариотических тРНК, но не обнаружены в бактериальной тРНК.

Предшественники тРНК могут подвергаться дальнейшему посттранскрипционному процессингу. 3'-Концевой тринуклеотид ССА (3'), к которому в ходе синтеза белка присоединяется аминокислота (гл. 27), отсутствует у некоторых бактериальных и у всех эукариотических предшественников тРНК и поэтому добавляется в ходе процессинга (рис. 26-27). Эту функцию выполняет тРНК-нуклеотидилтрансфераза — необычный фермент, который связывает три рибонуклеозидтрифосфата в отдельных активных центрах и катализирует формирование фосфодиэфирных связей с образованием последовательности ССА (3'). Синтез этой последовательности, таким образом, не нуждается в матрице ДНК или РНК — матрицей служит сайт связывания фермента.

Последний тип процессинга тРНК заключается в модификации некоторых оснований в реакциях метилирования, дезаминирования или восстановления (рис. 26-23). В случае псевдоуридина основание (урацил) удаляется и вновь присоединяется к остатку сахара по положению С-5.

Некоторые из модифицированных оснований находятся в специфических позициях во всех молекулах тРНК (рис. 26-27).

РНК со специализированными функциями подвергаются различным вариантам процессинга

Число идентифицированных классов специализированных РНК быстро растет, и параллельно с этим расширяются наши знания об их функциях. Многие из этих молекул РНК подвергаются процессингу.

Малая ядерная и малая ядрышковая РНК не только облегчают процессинг РНК, но и сами синтезируются в виде более крупных предшественников, а затем подвергаются процессингу. Многие мякРНК кодируются в интронах других генов. По мере вырезания интронов из пре-мРНК белки комплекса мякРНП связываются с последовательностями мякРНК, а рибонуклеазы удаляют лишние участки РНК с 5'- и 3'-концов. Направляющиеся в сплайсосомы мяРНК синте-

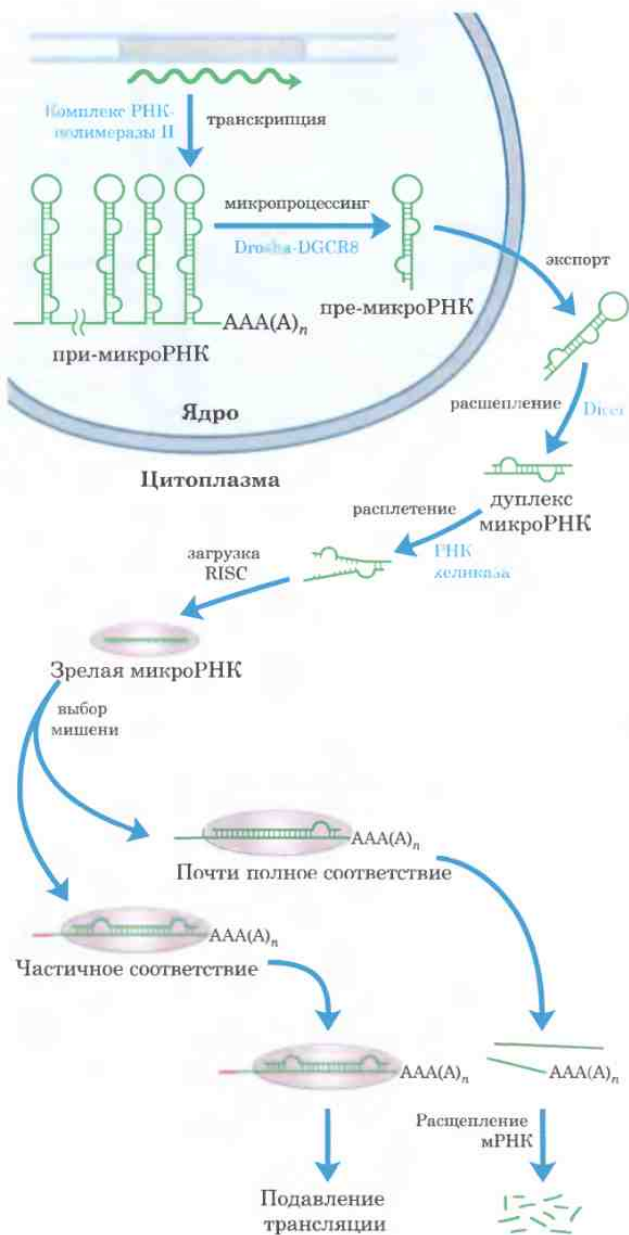


Рис. 26-28. Синтез и процессинг микроРНК. Первичный транскрипт микроРНК представляет собой более длинную последовательность РНК переменного размера, называемую при-микроРНК. В ее процессинге активную роль принимают две эндорибонуклеазы из семейства РНКаз III Drosha и Dicer. В ядре при-микроРНК сначала сокращается до предшественника микроРНК из 70–80 нуклеотидов (пре-микроРНК) в результате действия белкового комплекса, состоящего из Drosha и белка DGCR8. Далее пре-микроРНК переносится в цитоплазму, где на нее действует белок Dicer, в результате чего образуется практически зрелая микроРНК, спаренная с коротким фрагментом РНК. Эта комплементарная последовательность РНК удаляется РНК-хеликазой, и зрелая микроРНК включается в белковые комплексы, такие как RISC (от англ. *RNA-induced silencing complex*), которые затем связываются с мРНК-мишенью. При достаточной комплементарности микроРНК и ее мишени происходит расщепление мРНК-мишени, а если комплементарность лишь частичная, образовавшийся комплекс блокирует трансляцию мРНК-мишени.

тарны определенным участкам мРНК. Они регулируют функции мРНК путем ее расщепления или подавления ее трансляции. МикроРНК обнаружены у многих многоклеточных эукариот — от червей и плодовых мушек до растений и млекопитающих. Возможно, до 1% генома человека кодирует микроРНК, причем микроРНК могут взаимодействовать с третьей человеческих мРНК. Их функция в регуляции генов обсуждается в гл. 28.

МикроРНК синтезируются из гораздо более крупных предшественников за несколько стадий (рис. 26-28). Первичные транскрипты для микроРНК (при-микроРНК) значительно различаются по размеру; некоторые закодированы в интронах других генов и экспрессируются совместно с этими генами. Их роль в регуляции генов также подробно обсуждается в гл. 28.

Каталитические РНК осуществляют некоторые реакции метаболизма РНК

Исследование посттранскрипционного процессинга молекул РНК привело к одному из самых захватывающих открытий в современной биохимии — открытию каталитических РНК (рибозимов). Лучше других охарактеризованы такие рибозимы, как аутосплайсирующие интроны группы I, РНКазы Р и молотоголовый рибозим (см. ниже). Активность этих рибозимов

зируются в виде пре-мРНК с помощью РНК-полимеразы II, а рибонуклеазы удаляют лишние фрагменты РНК с обоих концов. Определенные нуклеозиды в мРНК могут быть подвергнуты 11 разным модификациям, причем чаще всего происходит 2'-О-метилирование и превращение уридина в псевдоуридин.

МикроРНК — это специализированный класс РНК, участвующих в регуляции экспрессии генов. Некодирующие последовательности этих РНК длиной около 22 нуклеотидов комплемен-

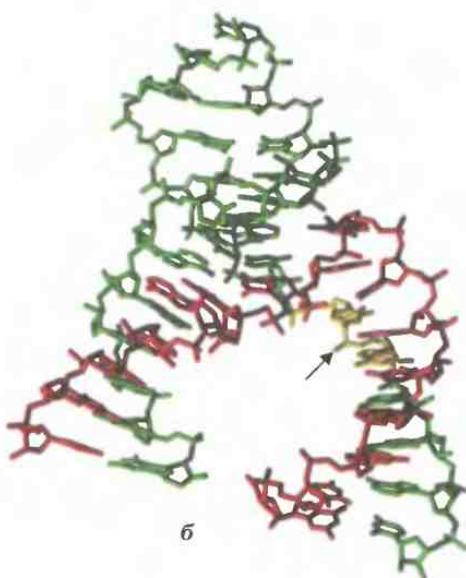
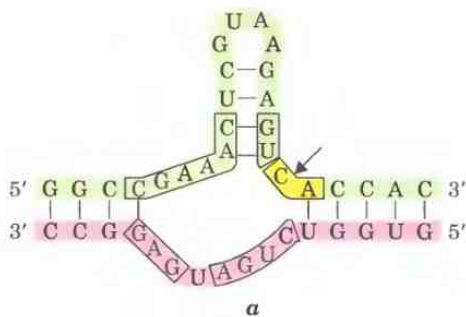


Рис. 26-29. Молотоголовый рибозим. Вирусоподобные элементы, называемые вирусоидами, имеют маленький РНК-геном и обычно нуждаются в другом вирусе, который помогает им реплицироваться и/или упаковываться. Некоторые молекулы вирусоидных РНК содержат небольшие участки, которые запускают реакции сайт-специфического расщепления РНК, связанные с репликацией. Эти участки называются молотоголовыми рибозимами, поскольку их вторичная структура напоминает головку молотка. **а** — минимальная последовательность рибозима, обладающего каталитической активностью. Обведенные рамкой консервативные нуклеотиды необходимы для проявления каталитической активности. Стрелка указывает сайт саморасщепления. **б** — трехмерная структура (PDB ID1MME, на рис. 8-25, б в т. 1 представлена в виде СРК-модели). Цепи окрашены так же, как на рис. а. Молотоголовые рибозимы относятся к металлоферментам; для проявления активности им необходимы ионы Mg^{2+} . Фосфодиэфирная связь в сайте саморасщепления показана стрелкой. ■ **Молотоголовый рибозим**

связана с двумя основными реакциями — реакцией трансэтерификации (рис. 26-14) и гидролизом фосфодиэфирных связей. Часто субстратом рибозимов является молекула РНК, которая может быть даже частью самого рибозима. Между РНК-субстратом и РНК-катализатором может происходить спаривание оснований, наилучшим образом подготавливающее субстрат к реакции.

Рибозимы значительно различаются по размерам. Аутосплайсирующие интроны группы I могут содержать более 400 нуклеотидов. Молотоголовый рибозим состоит из двух цепей РНК и содержит всего 41 нуклеотид (рис. 26-29). Как и в случае белковых ферментов, для функций рибозимов важное значение имеет их трехмерная структура. Рибозимы инактивируются при нагревании выше температуры плавления, в присутствии денатурирующих агентов или комплементарных олигонуклеотидов, которые нарушают нормальное спаривание оснований. Рибозимы также могут инактивироваться при модификации некоторых важных нуклеотидов в их составе. Вторичная структура аутосплайсирующихся интронов группы I из предшественника 26S рРНК у *Tetrahymena* изображена на рис. 26-30.

Ферментативные свойства интронов группы I

Кроме способности повышать скорость реакции, аутосплайсирующие интроны группы I имеют и другие общие с ферментами свойства, в том числе кинетическое поведение и специфичность. Связывание гуанозинового кофактора (рис. 26-14) с интроном I группы из рРНК *Tetrahymena* (рис. 26-26) достигает насыщения ($K_M \approx 30$ мкмоль/л) и подвержено конкурентному ингибированию 3'-дезоксигуанозином. Интрон очень точно осуществляет реакцию расщепления, в основном благодаря так называемой **внутренней адаптерной последовательности**, которая может спариваться с последовательностями экзона вблизи 5'-сайта сплайсинга (рис. 26-30). Такое спаривание способствует правильному расположению специфических связей, которые подвергаются расщеплению и воссоединению.

Поскольку интрон сам химически изменяется во время реакции сплайсинга (его концы расщепляются), казалось бы, он лишен важнейшей характеристики фермента — способности многократно осуществлять катализ. Детальное

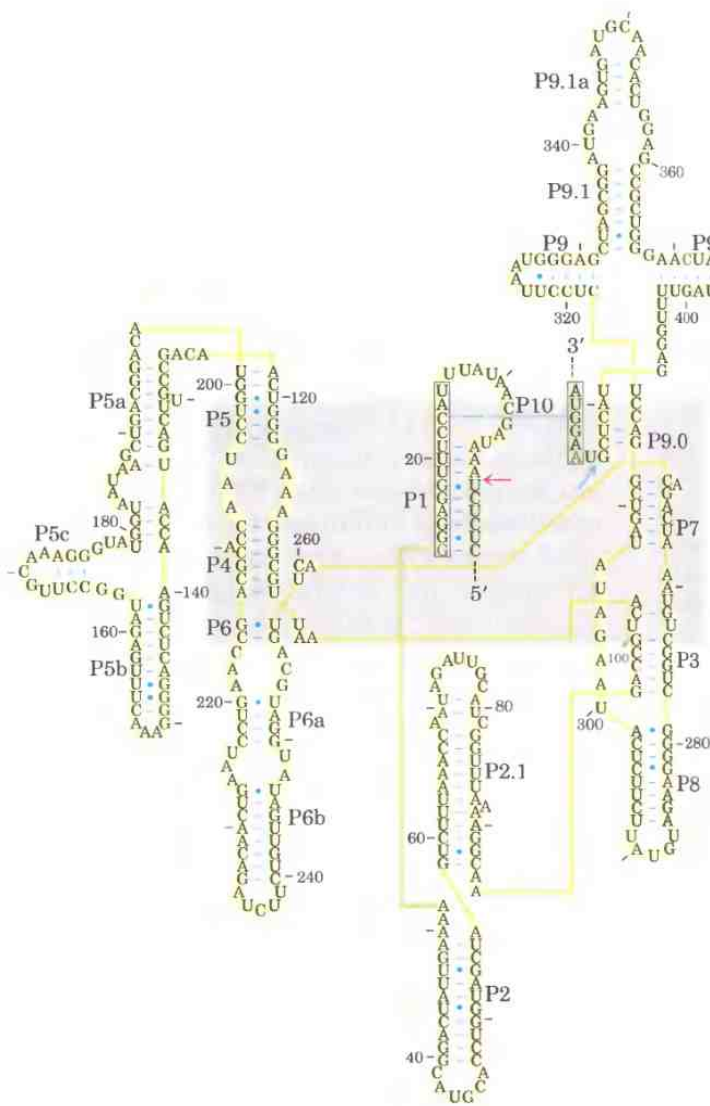


Рис. 26-30. Вторичная структура аутосплайс-рующегося интрона рРНК из *Tetrahymena*. Последовательности интрона отмечены желтым цветом, экзона — зеленым. Желтыми линиями обозначены связи между соседними нуклеотидами в последовательности (это вынужденная мера, позволяющая представить объемную молекулу в двух измерениях; длинная голубая линия между остатками С и G — нормальное спаривание оснований); изображены все нуклеотиды последовательности. Каталитическое ядро, обладающее аутосплайсирующей активностью, выделено серым прямоугольником. Некоторые участки со спаренными основаниями пронумерованы (P1, P3, P2.1, P5a и т. п.) в соответствии с принятыми договоренностями для данной молекулы РНК. В области P1, которая содержит внутреннюю адаптерную последовательность (в рамке), находится 5'-конец интрона (красная стрелка). Часть этой последовательности спаривается с 3'-концом экзона, что приводит к непосредственному контакту 3'- и 5'-сайтов сплайсинга (красная и голубая стрелки). Трехмерная структура крупного фрагмента этого интрона показана на рис. 8-25, в в т. 1.

исследование показало, что интрон из 414 нуклеотидов, вырезанный из рРНК *Tetrahymena*, может (*in vitro*) действовать как истинный фермент (*in vivo* он быстро разрушается). Серия внутримолекулярных реакций циклизации и расщепления в вырезанном интроне приводит к удалению 19 нуклеотидов с его 5'-конца. Линейная РНК из оставшихся 395 нуклеотидов (названная L-19 IVS от англ. *intervening sequence lacking 19 nucleotides*) способствует реакциям переноса нуклеотидов, в которых некоторые олигонуклеотиды удлиняются за счет других (рис. 26-31). Самыми хорошими субстратами этой РНК являются такие олигонуклеотиды, как синтетический олиго-

мер (С)₅, который может спариваться с такой же богатой гуанином внутренней адаптерной последовательностью, которая ориентировала 5'-конец экзона для аутосплайсинга.

Ферментативная активность рибозима L-19 IVS проявляется в цикле реакций трансэтерификации, по механизму напоминающих аутосплайсинг. Каждая молекула рибозима может обработать примерно 100 молекул субстрата в час и не изменяется в ходе реакции; таким образом, интрон действует как катализатор. Его действие соответствует кинетике Михаэлиса–Ментен, специфично по отношению к олигонуклеотидным РНК в качестве субстратов и может быть пол-

ностью блокировано ингибитором. Отношение K_{cat}/K_M (константа специфичности) составляет $10^3 \text{ M}^{-1} \cdot \text{с}^{-1}$, что меньше, чем у многих ферментов, но по сравнению с некатализируемой реакцией рибозим повышает скорость гидролиза примерно в 10^{10} раз. Такое ускорение достигается благодаря ориентации субстрата, ковалентного катализа и катализа ионом металла — так действуют и белковые ферменты.

Характеристика других рибозимов. РНКазы Р *E. coli* состоит из РНК (М1 РНК из 377 нуклеотидов) и белка ($M_r = 17\,500$). В 1983 г. Сидней Олтман и Норман Пейс с коллегами обнаружили, что при определенных условиях М1 РНК способна сама осуществлять катализ, расщепляя предшественников тРНК в совершенно определенном месте. Белковый компонент, вероятно, стабилизирует РНК или облегчает ее функционирование.

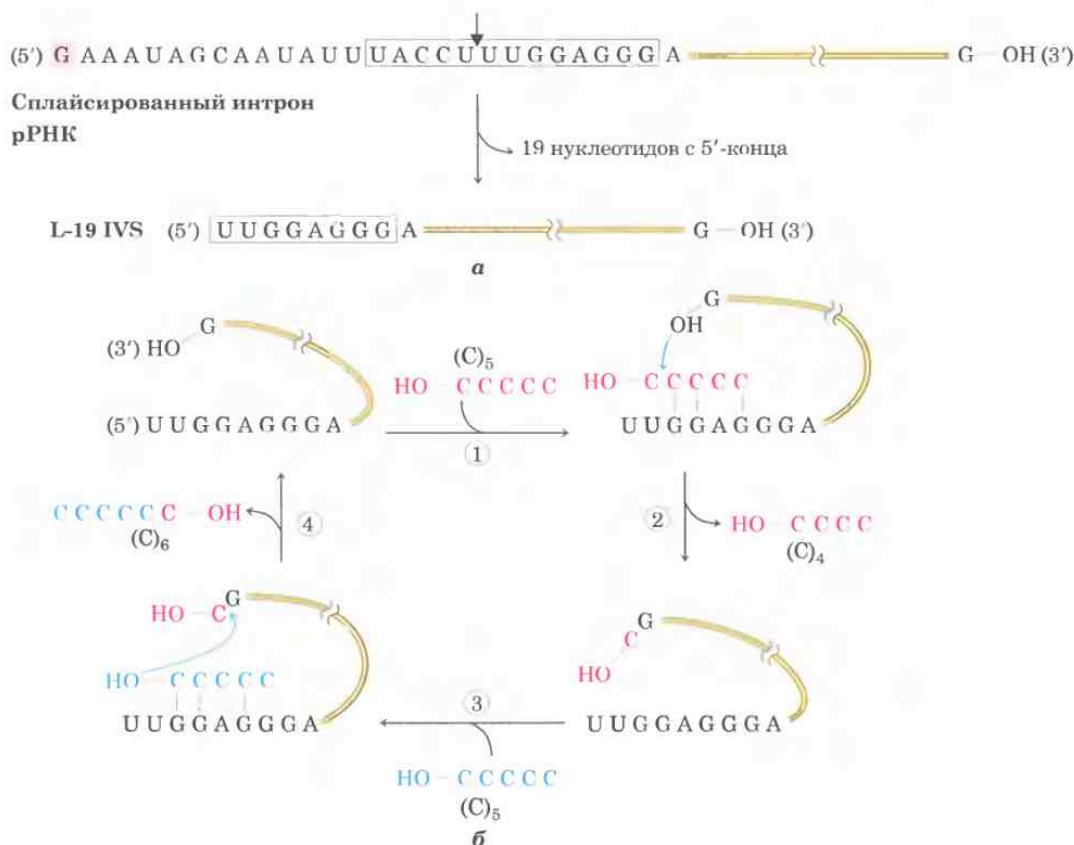


Рис. 26-31. Каталитическая активность L-19 IVS *in vitro*. а — L-19 IVS образуется путем аутокаталитического удаления 19 нуклеотидов с 5'-конца вырезаемого интрона у *Tetrahymena*. Сайт расщепления во внутренней адаптерной последовательности (в рамке) показан стрелкой. Остаток G (на розовом фоне), присоединенный на первой стадии реакции сплайсинга (см. рис. 26-15), входит в удаляемую последовательность. Часть внутренней адаптерной последовательности остается на 5'-конце L-19 IVS. б — L-19 IVS удлиняет некоторые олигонуклеотиды РНК за счет других в цикле реакций трансэтерификации (стадии 1–4). Ключевую роль в этом цикле играет группа 3'-ОН в остатке G на 3'-конце L-19 IVS (следует подчеркнуть, что это не остаток G, добавленный в процессе сплайсинга). Одним из лучших субстратов рибозима оказывается (C)₅, поскольку он может связываться с адаптерной последовательностью, сохраняющейся в интроне. Хотя такая каталитическая активность не реализуется в клетке, она имеет большое значение для формирования современной гипотезы эволюции, которая обсуждается в конце данной главы.

in vivo. Рибозим РНКазы Р распознает трехмерную форму субстрата (пре-тРНК), а также последовательность ССА, и таким образом может отщепить 5'-концевые последовательности от разных молекул тРНК (рис. 26-27).

Список известных рибозимов продолжает расти. Некоторые вирусоиды, мелкие молекулы РНК, ассоциированные с РНК-содержащими вирусами растений, содержат структуру, которая запускает реакцию саморасщепления. К этому классу каталитических молекул относится изображенный на рис. 26-29 молотоголовый рибозим, катализирующий гидролиз внутренней фосфодиэфирной связи. Реакция сплайсинга в сплайсосоме, по-видимому, осуществляется в каталитическом центре, сформированном U2, U5 и U6 мРНК (рис. 26-17). И, вероятно, самое главное — РНК-компонент рибосом катализирует синтез белка (см. гл. 27).

Обнаружение каталитических молекул РНК расширило наши представления о каталитической функции в целом и сыграло важную роль в формировании наших представлений о происхождении и эволюции жизни на нашей планете (см. разд. 26.3).

мРНК в клетке разрушаются с разной скоростью

Экспрессия генов регулируется на многих уровнях. Решающий фактор, управляющий экспрессией генов, — концентрация в клетке соответствующей мРНК. Концентрация любой молекулы зависит от двух факторов: скорости синтеза и скорости распада. Когда скорости синтеза и распада мРНК становятся равными, мРНК находится в стационарной концентрации. Изменение скорости синтеза или скорости распада приводит к накоплению или исчерпанию мРНК. Метаболические пути расщепления предотвращают накопление мРНК в клетке и синтез ненужных белков.

Скорости расщепления мРНК разных эукариотических генов в значительной степени различаются. Время полужизни мРНК тех продуктов, которые нужны недолго, может составлять несколько минут или даже секунд. Напротив, мРНК тех генов, чьи продукты требуются постоянно, могут быть стабильны на протяжении многих клеточных генераций. Среднее время полужизни мРНК в клетках позвоночных составляет примерно 3 часа,

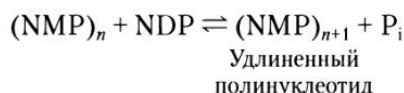
а пул каждого типа мРНК на протяжении одной клеточной генерации оборачивается примерно 10 раз. Время полужизни бактериальной мРНК намного меньше — лишь около 1,5 мин; возможно, это обусловлено регуляцией метаболизма.

Матричная РНК разрушается рибонуклеазами, присутствующими во всех клетках. В *E. coli* процесс начинается с одного или нескольких разрывов, которые вносит эндорибонуклеаза, с последующим 3'→5'-расщеплением экзорибонуклеазами. У низших эукариот основной метаболический путь начинается с укорочения поли(А)-«хвоста» с последующим «декапированием» 5'-конца и расщеплением мРНК в направлении 5'→3'. Путь расщепления в направлении 3'→5' также существует и, возможно, является основным путем у высших эукариот. У всех эукариот существует комплекс, называемый **экзосомой**, содержащий до 10 консервативных 3'→5'-экзорибонуклеаз, которые участвуют в процессинге 3'-конца рРНК и тРНК, а также в расщеплении мРНК.

Напоминающая шпильку структура бактериальной мРНК с р-независимым терминатором (рис. 26-8) обеспечивает защиту от расщепления. Схожие шпильчатые структуры стабилизируют некоторые части первичного транскрипта, что является причиной неравномерного расщепления транскриптов. В клетках эукариот важное значение для стабильности многих молекул мРНК имеют 3'-поли(А)-«хвост» и 5'-кэп. ● **Жизненный цикл мРНК**

Полиинуклеотидфосфорилаза создает случайные РНК-подобные полимеры

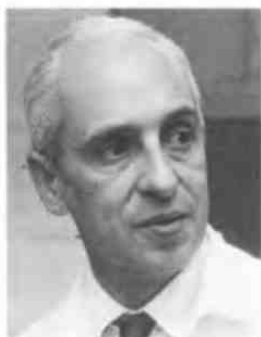
В 1955 г. Марианна Грюнберг-Манаго и Северо Очоа открыли бактериальный фермент **полиинуклеотидфосфорилазу**, которая *in vitro* катализирует реакцию:



Полиинуклеотидфосфорилаза была обнаружена первой среди всех ферментов, синтезирующих нуклеиновые кислоты (вскоре после этого Артур Корнберг открыл ДНК-полимеразу). Реакция, катализируемая полиинуклеотидфосфорилазой, принципиально отличается от всех упомянутых выше полимеразных реакций тем, что не зависит



Марианна Грюнберг-
Маного, 1921–2013



Северо Очоа,
1905–1993

от матрицы. Этот фермент использует в качестве субстратов 5'-дифосфаты рибонуклеозидов и не действует на гомологичные 5'-трифосфаты или на дезоксирибонуклеозид-5'-дифосфаты. Полимер РНК, синтезированный полинуклеотидфосфорилазой, содержит обычные 3',5'-фосфодиэфирные связи, которые расщепляются рибонуклеазой. Эта реакция легко обратима, и равновесие смещается в сторону расщепления полирибонуклеотида при повышении концентрации фосфата. Предполагаемая роль фермента в клетке заключается в разрушении молекул мРНК до нуклеозиддифосфатов.

Поскольку реакция фосфорилирования полинуклеотидов не нуждается в матрице, создаваемый полимер не содержит специфических последовательностей оснований. Реакция протекает одинаково хорошо с любым из четырех или со всеми четырьмя нуклеотиддифосфатами, а состав образующегося полимера зависит лишь от относительной концентрации 5'-дифосфатов (субстратов) в среде.

Полинуклеотидфосфорилаза может применяться в лаборатории для синтеза полимеров РНК с самыми разными последовательностями оснований. Синтетические полимеры РНК такого рода сыграли важнейшую роль при выяснении генетического кода аминокислот (гл. 27).

Краткое содержание раздела 26.2 ПРОЦЕССИНГ РНК

- Эукариотические молекулы мРНК модифицируются путем присоединения остатка 7-метилгуанозина на 5'-конце, а также расщепления и полиаденилирования 3'-конца с формированием длинного поли(А)-«хвоста».

- Многие первичные транскрипты мРНК содержат интроны (некодирующие области), которые удаляются сплайсингом. Вырезание интронов группы I, обнаруженных в некоторых молекулах рРНК, нуждается в гуанозиновом кофакторе. Некоторые интроны групп I и II способны к аутосплайсингу без участия белковых ферментов. Ядерные предшественники мРНК содержат интроны III группы (самой многочисленной), которые вырезаются с помощью РНК-белковых комплексов, называемых мяРНП, организованных в сплайсосомы. Интроны IV группы осуществляют сплайсинг белковых ферментов; эти интроны обнаружены в некоторых молекулах тРНК.
- Функционирование многих эукариотических мРНК регулируется комплементарной микроРНК. Молекулы микроРНК образуются из более длинных предшественников в результате серии реакций процессинга.
- Молекулы рибосомной и транспортной РНК образуются из более длинных молекул предшественников, расщепляемых нуклеазами. В ходе созревания некоторые основания модифицируются ферментами. Некоторые модификации нуклеозидов регулируются мякРНК в белковых комплексах мякРНП.
- Аутосплайсирующие интроны и РНК-компонент РНКазы Р (отщепляет 5'-конец предшественников тРНК) — примеры рибозимов. Эти биологические катализаторы обладают свойствами истинных ферментов. Обычно они катализируют гидролитическое расщепление и трансэтерификацию, используя в качестве субстрата РНК. Сочетанию таких реакций способствует вырезанный интрон группы I из рРНК *Tetrahymena*, образующийся в ходе реакции РНК-полимеризации.
- Полинуклеотидфосфорилаза в обратной реакции синтезирует РНК-подобные полимеры из рибонуклеозид-5'-дифосфатов, добавляя или удаляя рибонуклеотиды на 3'-гидроксильном конце полимера. Фермент разрушает РНК *in vivo*.

26.3. РНК-зависимый синтез РНК и ДНК

До сих пор при обсуждении синтеза ДНК и РНК мы рассматривали в роли матрицы исключительно молекулы ДНК. Однако некоторые ферменты для синтеза нуклеиновых кислот используют матрицу РНК. За очень важным исключением, касающимся вирусов с геномом из РНК, эти ферменты играют в информационных путях лишь скромную роль. Именно РНК-содержащие вирусы являются источником большинства известных к настоящему времени РНК-зависимых полимераз.

Существование репликации РНК требует пересмотра основной догмы молекулярной биологии (рис. 26-32; сравните с диаграммой на с. 5). Ферменты, участвующие в репликации РНК, помогают пролить свет на природу самореплицирующихся молекул, которые могли существовать в пребиотические времена.

Обратная транскриптаза синтезирует ДНК с матрицы вирусной РНК

Некоторые РНК-содержащие вирусы, инфицирующие клетки животных, содержат в вирусных частицах РНК-зависимую ДНК-полимеразу, называемую **обратной транскриптазой**. При инфицировании фермент попадает в клетку хозяина вместе с одноцепочечным вирусным РНК-геномом (~10 000 нуклеотидов). Обратная транскриптаза сначала катализирует синтез цепи ДНК, комплементарной вирусной РНК (рис. 26-33), затем разрушает цепь РНК в гибриде РНК-ДНК и заменяет ее на ДНК. Образовавшаяся двухцепочечная ДНК часто встраивается в геном клетки хозяина. Такие интегрированные (и молчащие) вирусные

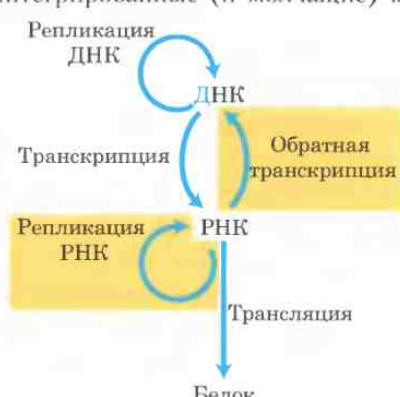


Рис. 26-32. Расширение основной догмы молекулярной биологии с учетом РНК-зависимого синтеза РНК и ДНК.

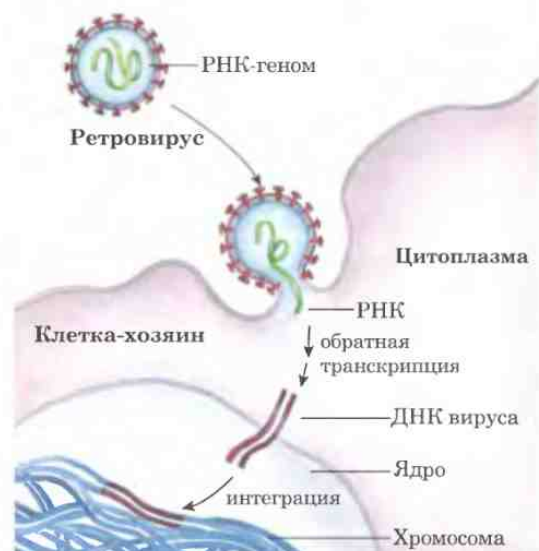


Рис. 26-33. Ретровирусная инфекция в клетке млекопитающего и интеграция ретровируса в хромосому хозяина. Вирусные частицы, проникающие в клетку хозяина, несут вирусную обратную транскриптазу и клеточную тРНК (захваченную из предыдущей клетки-хозяина) уже в паре с вирусной РНК. Молекулы тРНК опосредуют немедленное превращение вирусной РНК в двухцепочечную ДНК при участии обратной транскриптазы, как описано в тексте. Двухцепочечная ДНК проникает в ядро и встраивается в геном хозяина. Интеграцию катализирует вирусная интегративная фермент. Механизм интеграции ДНК вируса в ДНК хозяина напоминает механизм встраивания транспозонов в бактериальные хромосомы (см. рис. 25-45). Например, на участке интеграции несколько пар оснований ДНК хозяина удваиваются, формируя короткие повторы из 4–6 п. н. с обеих сторон от вставки ретровирусной ДНК (не показано).

гены могут активироваться и транскрибироваться, а продукты этих генов — вирусные белки, а также сам РНК-геном вируса могут упаковываться в новые вирусные частицы. РНК-вирусы, содержащие обратные транскриптазы, называются **ретровирусами** (лат. приставка *retro* означает «обратно»).

Существование обратных транскриптаз РНК-содержащих вирусов в 1962 г. предсказал Говард Темин, и в 1970 г. эти ферменты были обнаружены Теминым и независимо Дейвидом Балтимором. Открытие привлекло большое внимание, поскольку пошатнуло основную догму и показало, что генетическая информация может переходить «назад» от РНК к ДНК.

Ретровирусы обычно несут три гена: *gag* (от исторически сложившегося англ. названия *group associated antigen* — групповые ассоциированные



Говард Темин, 1934–1994



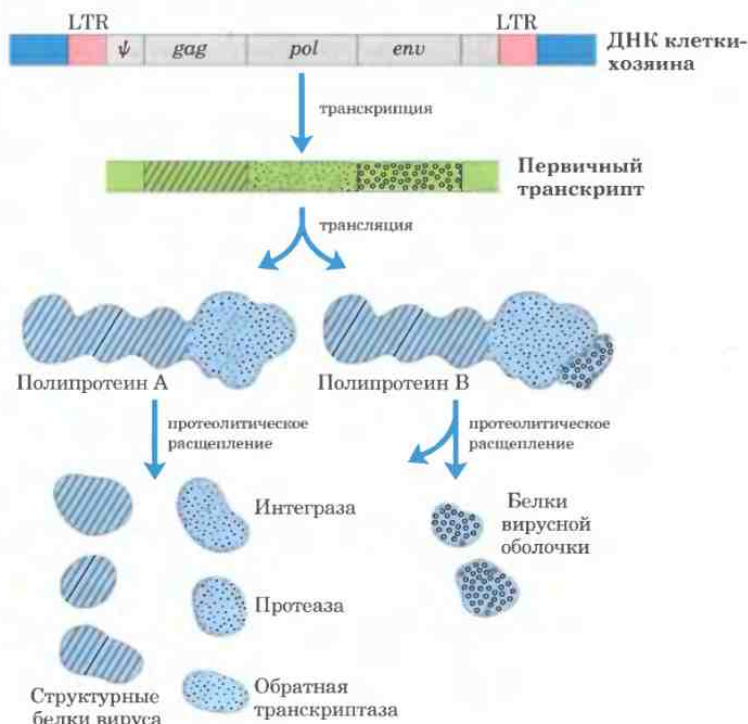
Дейвид Балтимор

антигены), *pol* и *env* (рис. 26-34). Транскрипт, содержащий *gag* и *pol*, транслируется в длинный «полипротеин» — полипептид, который расщепляется на шесть белков с различными функциями. Белки, кодируемые геном *gag*, образуют сердцевину вирусной частицы. Ген *pol* кодирует протеазу, расщепляющую длинный полипептид, интегразу, которая встраивает вирусную ДНК в хромосому хозяина, и обратную транскриптазу. Многие обратные транскриптазы состоят из двух субъединиц α и β . Ген *pol* кодирует β -субъединицу ($M_r = 90\,000$), а α -субъединица ($M_r = 65\,000$) —

это протеолитический фрагмент β -субъединицы. Ген *env* кодирует белки вирусной оболочки. На каждом конце линейного РНК-генома находятся длинные концевые повторы (LTR), состоящие из нескольких сотен нуклеотидов. Транскрибированные в двухцепочечную ДНК, эти последовательности облегчают интеграцию вирусной хромосомы в ДНК хозяина и содержат промоторы для экспрессии генов вируса.

Обратные транскриптазы катализируют три разные реакции: (1) РНК-зависимый синтез ДНК, (2) расщепление РНК и (3) ДНК-зависимый синтез ДНК. Подобно многим ДНК- и РНК-полимеразам, обратные транскриптазы содержат Zn^{2+} . Любая транскриптаза наиболее активна с РНК собственного вируса, но все они могут применяться в эксперименте для получения молекул ДНК, комплементарных разнообразным молекулам РНК. В синтезе ДНК и РНК и в расщеплении РНК задействованы разные активные центры белка. Для начала синтеза ДНК обратной транскриптазе нужен праймер, клеточная тРНК, захваченная у предыдущего хозяина и переносимая в составе вирусной частицы. 3'-Конец этой тРНК спарен с комплементарной последовательностью вирусной РНК. Новая цепь ДНК синтезируется в направлении 5'→3', как во

Рис. 26-34. Структура и продукты интегрированного ретровирусного генома. Длинные концевые повторы (LTR) содержат последовательности, необходимые для регуляции и инициации транскрипции. Последовательность ψ нужна для упаковки молекул ретровирусной РНК в зрелые вирусные частицы. Транскрипция ретровирусной ДНК приводит к образованию первичного транскрипта, включающего гены *gag*, *pol* и *env*. В результате трансляции (гл. 27) образуется длинный полипротеин — полипептид, кодируемый генами *gag* и *pol*, который расщепляется на шесть белков с различными функциями. После сплайсинга первичного транскрипта, синтезируемого на основе гена *env*, образуется мРНК, которая также транслируется в полипротеин, расщепляющийся затем с образованием белков вирусной оболочки.



всех реакциях с участием РНК- и ДНК-полимераз. Обратные транскриптазы, как и РНК-полимеразы, не имеют корректирующей экзонуклеазной активности в направлении $3' \rightarrow 5'$. Частота ошибок, допускаемых этими ферментами, составляет примерно 1 на 20 000 присоединенных нуклеотидов. Такая высокая частота ошибок совершенно необычна для репликации ДНК и, вероятно, свойственна большинству ферментов, реплицирующих геномы РНК-содержащих вирусов. Результатом является большая частота мутаций и высокий темп эволюции вирусов, что приводит к частому появлению новых безвредных штаммов ретровирусов.

Обратные транскриптазы стали важными инструментами в изучении взаимодействий между ДНК и РНК, а также в методах клонирования ДНК. Они позволяют синтезировать ДНК, комплементарную матрице мРНК; приготовленная таким способом синтетическая ДНК называется **комплементарной ДНК (кДНК)** и может использоваться для клонирования клеточных генов (см. рис. 9-14 в т. 1).

Некоторые ретровирусы вызывают рак и СПИД

Изучение ретровирусов позволило сильно продвинуться в понимании молекулярной природы рака. Большинство ретровирусов не убивают хозяйские клетки, а остаются встроенными в клеточную ДНК и реплицируются при делении клетки. Некоторые ретровирусы, относящиеся к РНК-содержащим опухолевым вирусам, содержат онкоген, который может вызвать неконтролируемый рост клеток. Первым изученным вирусом этого типа был вирус саркомы Рауса (другое название — вирус саркомы птиц; **рис. 26-35**), названный в честь Ф. Пейтона Рауса, который изучал опухоли кур, вызываемые этим вирусом. После открытия Харолдом Вармусом и Майклом Бишопом онкогенов в ретровирусах были обнаружены десятки таких генов.

Вирус иммунодефицита человека (ВИЧ), вызывающий синдром приобретенного иммунного дефицита (СПИД), тоже относится к ретровирусам. Вирус иммунодефицита человека, идентифицированный в 1983 г., имеет РНК-геном со стандартным набором ретровирусных генов наряду с некоторыми необычными генами (**рис. 26-36**). В отличие от многих других ретровирусов ВИЧ чаще убивает инфицированные им клетки (главным образом Т-лимфоциты), чем вызывает формирование опухолей. Это постепенно приводит к подавлению иммунной системы хозяина. Обратная транскриптаза ВИЧ допускает еще больше ошибок, чем другие известные обратные транскриптазы, — в 10 или более раз, что приводит к высокой частоте мутаций вируса. При каждой репликации генома вируса ВИЧ обычно появляется одна или несколько ошибок, поэтому любые две молекулы РНК этого вируса могут различаться между собой.

Многие современные вакцины, эффективные в отношении вирусных инфекций, состоят из одного или нескольких белков оболочки вируса; их получают способами, описанными в гл. 9 (в т. 1). Сами эти белки не вызывают заражения, но они стимулируют иммунную систему и помогают ей распознать вирус при возможной инфекции и справиться с ним (гл. 5 в т. 1). Из-за высокой частоты ошибок в реакции обратной транскриптазы ген *env* ВИЧ (и весь геном) очень быстро мутирует, что затрудняет создание эффективной вакцины. Однако для распространения ВИЧ-инфекции необходимы повторные циклы заражения клеток и репликация, поэтому самый эффективный современный способ лечения основан на ингибировании вирусных ферментов. ВИЧ-протеаза является мишенью для лекарственных препаратов, называемых ингибиторами протеазы (см. доп. 6-3 в т. 1). Обратная транскриптаза является мишенью для некоторых других лекарств, широко применяемых для лечения ВИЧ-инфицированных (см. доп. 26-2). ■



Рис. 26-35. Геном вируса саркомы Рауса. Ген *src* кодирует тирозинкиназу, относящуюся к классу ферментов, влияющих на клеточное деление, межклеточные взаимодействия и передачу внутриклеточных сигналов (гл. 12 в т. 1). Этот же ген обнаружен в ДНК кур (обычный хозяин данного вируса) и в геномах многих эукариот, включая человека. Под воздействием вируса саркомы Рауса этот онкоген начинает активно экспрессироваться, способствуя неконтролируемому клеточному делению и возникновению рака.

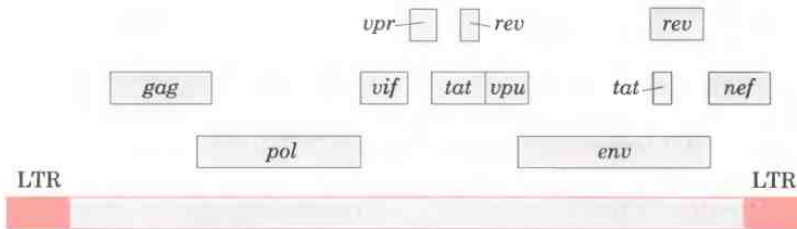


Рис. 26-36. Геном ВИЧ. Помимо типичных генов ретровирусов ВИЧ содержит несколько небольших генов с различными функциями (не все они идентифицированы и здесь не рассматриваются). Некоторые из этих генов перекрываются (см. с. 175). В результате альтернативного сплайсинга из этого маленького генома ($9,7 \cdot 10^3$ нуклеотидов) образуется много разных белков.

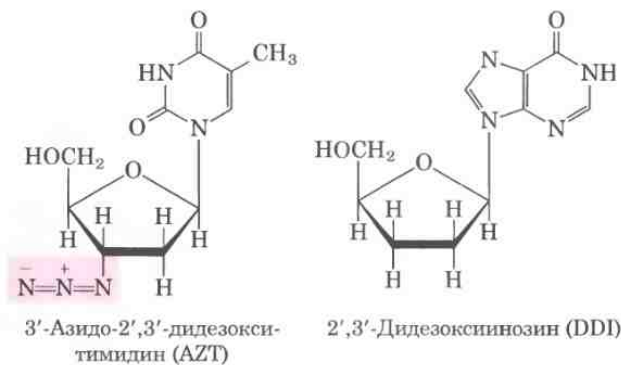
Дополнение 26-2 МЕДИЦИНА Борьба со СПИДом с помощью ингибиторов обратной транскриптазы

Жизненный цикл и структура вируса иммунодефицита человека (ВИЧ) были установлены в результате изучения химии зависимого от матрицы биосинтеза нуклеиновых кислот современными методами молекулярной биологии. Через несколько лет после выделения ВИЧ эти исследования позволили создать лекарства, продлевающие жизнь людей, инфицированных этим вирусом.

Первый препарат, допущенный к клиническим испытаниям — азидотимидин (AZT) — структурный аналог дезокситимидина. Впервые AZT был синтезирован в 1964 г. Джеромом Хорвицем. В 1985 г. выяснилось, что это неудачное противоопухолевое средство (препарат был создан для борьбы с раком) может оказаться полезным для лечения больных СПИДом. Наиболее чувствительные к ВИЧ-инфекции клетки иммунной системы Т-лимфоциты захватывают AZT и преобразуют его в AZT-трифосфат. (Непосредственное введение AZT-трифосфата неэффективно,

поскольку это соединение не может проходить через плазматическую мембрану.) Обратная транскриптаза ВИЧ обладает повышенным сродством к AZT-трифосфату по сравнению с dTTP, и связывание AZT-трифосфата с ферментом конкурентно ингибирует связывание dTTP. Когда к 3'-концу растущей цепи ДНК присоединяется AZT, отсутствие 3'-гидроксильной группы приводит к тому, что синтез вирусной ДНК прерывается.

AZT-трифосфат нетоксичен для самих Т-лимфоцитов, поскольку клеточная ДНК-полимераза имеет пониженное сродство к этому соединению по сравнению с dTTP. В концентрации 1–5 мкмоль AZT воздействует на обратную транскрипцию ВИЧ, но не влияет на репликацию клеточной ДНК. К сожалению, AZT оказался токсичным для клеток костного мозга — предшественников эритроцитов, поэтому у многих пациентов, принимающих AZT, развивается анемия. Применение AZT может увеличить время жизни людей с хронической формой ВИЧ-инфекции примерно на год и заметно отодвигает проявления симптомов СПИДа у пациентов на ранней стадии инфицирования ВИЧ. Некоторые другие средства против ВИЧ-инфекции, например дидезоксиинозин (DDI), имеют схожий механизм действия. Более современные лекарственные средства инактивируют ВИЧ-протеазу. Из-за высокой степени ошибок обратной транскриптазы и связанной с этим быстрой эволюцией вируса большинство эффективных способов лечения основано на комбинации лекарственных средств, подавляющих и протеазу, и обратную транскриптазу.



Многие транспозоны, ретровирусы и интроны могут иметь общее эволюционное происхождение

Структура некоторых хорошо изученных транспозонов из столь разных источников, как дрожжи и дрозофила, очень напоминает структуру ретровирусов; иногда их называют ретротранспозонами (рис. 26-37). Ретротранспозоны кодируют фермент, гомологичный ретровирусной обратной транскриптазе, и их кодирующие области фланкированы последовательностями LTR. Они переносятся внутри клеточного генома из одного положения в другое с помощью РНК-посредника, используя обратную транскриптазу для создания ДНК-копии РНК с последующей интеграцией ДНК в новый сайт. Большинство транспозонов эукариот для транспозиции использует этот механизм, что отличает их от транспозонов бактерий, которые перемещаются непосредственно в виде фрагментов ДНК из одного участка хромосомы в другой (см. рис. 25-45).

Ретротранспозоны утратили ген *env* и не могут образовывать вирусные частицы. Поэтому их следует рассматривать как дефектные вирусы, оказавшиеся в клетке, как в ловушке. Сравнение ретровирусов с эукариотическими транспозонами показывает, что обратная транскриптаза — очень древний фермент, появившийся до возникновения многоклеточных организмов.

Интересно, что многие интроны групп I и II тоже являются подвижными генетическими элементами. Они не только способны осуществлять аутосплайсинг, но и кодируют эндонуклеазы ДНК, способствующие их перемещению. В про-

цессе обмена генами между клетками одного вида или при внедрении в клетку ДНК под действием паразитов или иным способом эти эндонуклеазы способствуют встраиванию интрона в идентичный участок в другой копии ДНК гомологичного гена, который не содержит этого интрона. Данный процесс называется **хomingом** (рис. 26-38). Хоминг интронов группы I осуществляется на основе ДНК, тогда как хоминг интронов группы II — через РНК-посредника. Эндонуклеазы интронов группы II обладают также активностью обратной транскриптазы. Эти белки могут образовывать комплексы с РНК интронов после того, как интроны вырезаны из первичных транскриптов. Поскольку процесс хоминга включает встраивание РНК интрона в ДНК и обратную транскрипцию интрона, перемещение этих интронов называют ретрохomingом. В популяции каждая копия конкретного гена со временем может приобрести интрон. Гораздо реже интрон самостоятельно встраивается в новое место в неродственном гене. Если при этом хозяйская клетка не погибает, это может быть началом эволюционных изменений и привести к распространению интрона в новом месте. Структуры подвижных интронов и механизмы их распространения подтверждают предположение, что по крайней мере некоторые из них возникли как молекулярные паразиты, чья эволюция восходит к ретровирусам и транспозонам.

Теломераза — специализированная обратная транскриптаза

Теломеры — структуры на концах линейных хромосом эукариот (см. рис. 24-9); обычно они состоят из многих tandemных повторов короткой олигонуклеотидной последовательности. Эта последовательность, как правило, имеет вид T_xG_y в одной цепи и C_yA_x в комплементарной цепи, где значения x и y колеблются от 1 до 4 (с. 13). Теломеры различаются по длине от нескольких десятков пар оснований у некоторых ресничных простейших до десятков тысяч пар оснований у млекопитающих. Цепь TG длиннее, чем комплементарная ей цепь, поэтому на 3'-конце имеется участок одноцепочечной ДНК длиной до нескольких сотен нуклеотидов.

Репликация концов линейной хромосомы клеточными ДНК-полимеразами — процесс достаточно сложный. Для репликации ДНК нуж-

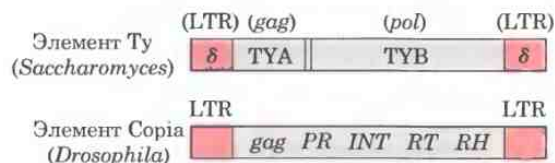


Рис. 26-37. Транспозоны эукариот. Ty-элемент дрожжей *Saccharomyces* и copia-элемент плодовой мухи *Drosophila* — примеры транспозонов эукариот со структурой, напоминающей ретровирусы, но утратившие ген *env*. Последовательности δ элемента Ty — функциональный эквивалент ретровирусных последовательностей LTR. В copia-элементе последовательности *INT* и *RT* гомологичны участкам интегразы и обратной транскриптазы в составе гена *pol*.

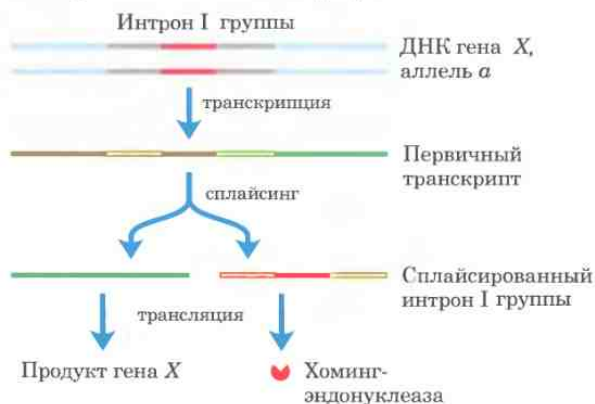
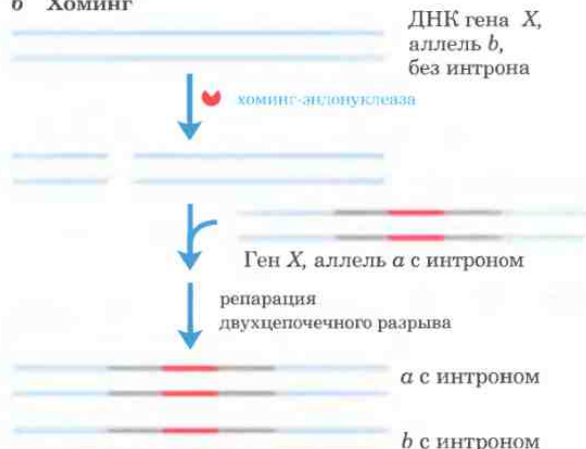
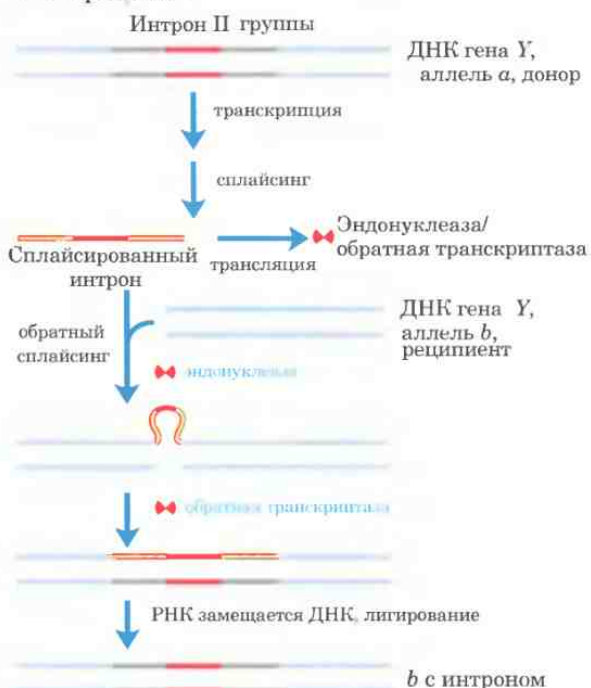
а Образование хоминг-эндонуклеазы

Рис. 26-38. Подвижные интроны: хоминг и ретрохоминг. Некоторые интроны содержат ген (красный) фермента, который активирует хоминг (некоторые интроны I группы) или ретрохоминг (некоторые интроны II группы). **а** — ген внутри вырезаемого интрона связывается рибосомой и транслируется. Хоминг-интроны I группы кодируют сайт-специфическую эндонуклеазу, называемую хоминг-эндонуклеазой. Ретрохоминг-интроны II группы кодируют белок с активностью эндонуклеазы и обратной транскриптазы одновременно. **б** — хоминг. Аллель *a* гена *X*, содержащего хоминг-интрон I группы, присутствует в клетке, содержащей аллель *b* того же гена, но без интрона. Хоминг-эндонуклеаза, образованная *a*, расщепляет *b* в положении, соответствующем интрону в *a*, а затем в результате репарации двухцепочечного разрыва (рекомбинация с аллелем *a*; см. рис. 25-31, *a*) возникает новая копия интрона в *b*. **в** — ретрохоминг. Аллель *a* гена *Y* содержит ретрохоминг-интрон II группы; аллель *b* не имеет интрона. Вырезанный интрон встраивается в кодирующую цепь *b* в реакции, обратной реакции сплайсинга, когда интрон вырезается из первичного транскрипта (см. рис. 26-15); однако здесь происходит встраивание в ДНК, а не в РНК. Некодирующая цепь ДНК в аллеле *b* расщепляется закодированной в интроне эндонуклеазой/обратной транскриптазой. Этот же фермент использует встроенную РНК в качестве матрицы для синтеза комплементарной цепи ДНК. Затем РНК разрушается клеточными рибонуклеазами и заменяется на ДНК.

б Хоминг**в Ретрохоминг**

ны матрица и праймер, а за пределами линейной молекулы ДНК нет матрицы для посадки РНК-праймера. Без специального механизма репликации концов хромосомы становились бы короче и короче с каждым клеточным делением. Фермент **теломераза** решает эту проблему, добавляя к концам хромосомы теломеры.

Существование такого фермента, возможно, не вызывает удивления, но механизм его действия весьма необычен. Теломераза, подобно некоторым другим ферментам, описанным в этой главе, состоит из РНК и белка. Длина РНК-компонента составляет примерно 150 нуклеотидов, и в нем содержится около 1,5 копий теломерного повто-

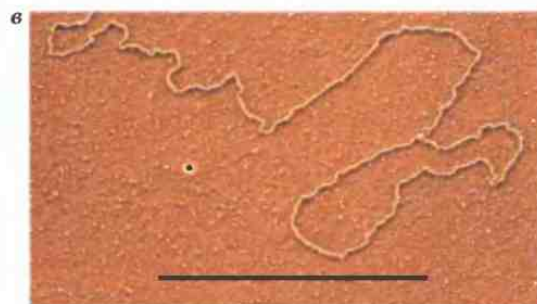
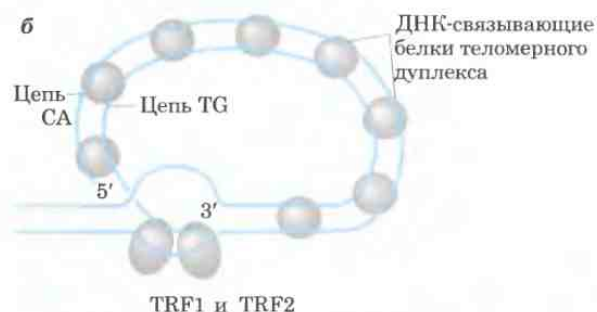
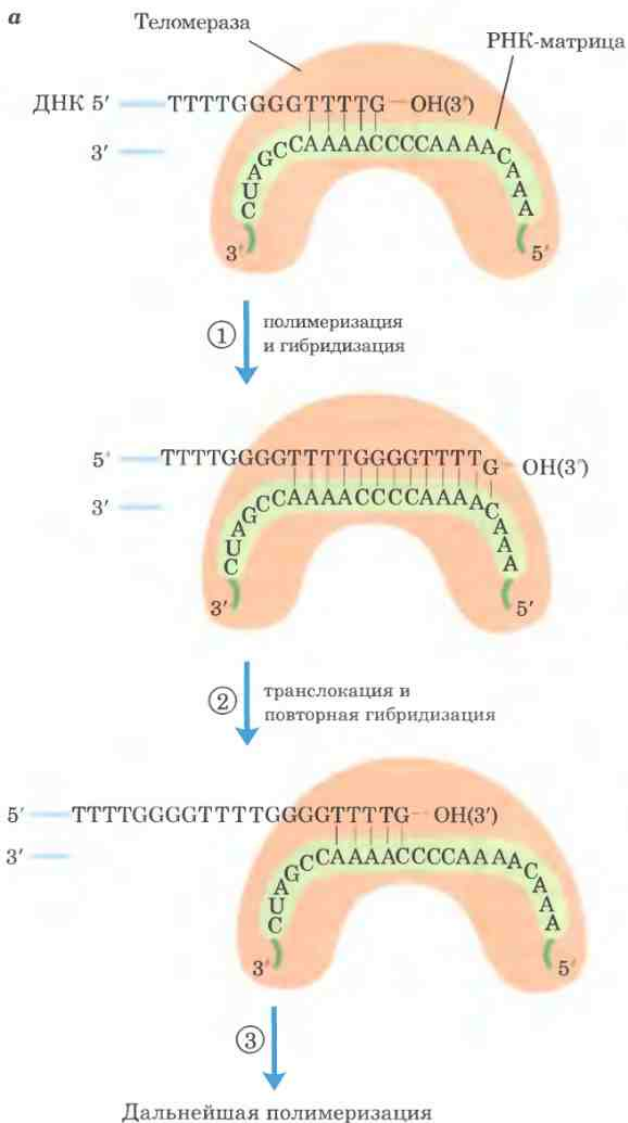


Рис. 26-39. Цепь TG и Т-петля в теломерах. *а* — собственная РНК-матрица теломеразы связывается и образует пары оснований с TG-праймером ДНК. ① Теломераза присоединяет к TG-праймеру дополнительные остатки Т и G, затем ② перемещает собственную матрицу РНК, чтобы ③ продолжить присоединение оснований Т и G. Комплементарная цепь синтезируется клеточными ДНК-полимеразами (не показано). *б* — предполагаемая структура Т-петель в теломерах. Одноцепочечный «хвост», синтезированный теломеразой, загибается назад и спаривается с комплементарной последовательностью двухцепочечного участка. Теломера связывается с несколькими белками, включая TRF1 и TRF2 (от англ. *telomere repeat binding factors* — факторы связывания теломерных повторов). *в* — электронная микрофотография Т-петли на конце хромосомы, выделенной из гепатоцитов мыши. Длина черного отрезка внизу фотографии соответствует 5000 п. н.

ра C_yA_x . Эта область РНК действует как матрица для синтеза цепи T_xG_y в теломере. Теломераза, таким образом, выступает в клетке в роли обратной транскриптазы, в активном центре которой происходит РНК-зависимый синтез ДНК. В отличие от обратной транскриптазы ретровирусов теломераза копирует только маленький участок РНК, который она содержит внутри самой себя. Для синтеза теломеры в качестве праймера используется 3'-конец хромосомы; синтез протекает в обычном направлении 5'→3'. Синтезировав одну копию повтора, фермент перемещается, чтобы продолжить удлинение теломеры (рис. 26-39, *а*).

После продления теломеразой цепи T_xG_y комплементарная ей цепь C_yA_x синтезируется клеточными ДНК-полимеразами, начиная с праймера РНК (см. рис. 25-13). У многих низших эукариот, особенно тех видов, теломеры которых содержат не больше нескольких сотен пар оснований, одноцепочечную область защищают специальные связывающие белки. У высших эукариот (включая млекопитающих) с теломерами длиной в несколько тысяч пар оснований одноцепочечный конец образует особую структуру, называемую **Т-петлей** (рис. 26-39, *б*). Одноцепочечный конец загибается назад и спаривается с комплементарным участ-

ком в двухцепочечной части теломеры. При образовании Т-петли 3'-конец одноцепочечной теломеры внедряется в ДНК-дуплекс, возможно, по механизму, аналогичному механизму инициации гомологичной генетической рекомбинации (см. рис. 25-33). У млекопитающих петля ДНК связана с двумя белками TRF1 и TRF2, причем последний белок участвует в формировании Т-петли. Т-петли защищают 3'-концы хромосом, делая их недоступными для нуклеаз и ферментов репарации двухцепочечных разрывов.

У простейших (таких как *Tetrahymena*) потеря теломеразной активности приводит к постепенному укорачиванию теломер при каждом клеточном делении и неизбежно заканчивается гибелью клеточной линии. Похожая связь между длиной теломер и старением клеток (прекращением клеточного деления) наблюдается и у человека. В линиях зародышевых клеток, обладающих теломеразной активностью, теломеры имеют постоянную длину; в соматических клетках, утративших теломеразу, теломеры укорачиваются. Существует обратная линейная зависимость между длиной теломер в культивируемых фибробластах и возрастом людей, у которых эти фибробласты были взяты: чем старше человек, тем короче теломеры в его соматических клетках. Если в условиях *in vitro* в соматические клетки человека ввести теломеразную обратную транскриптазу, теломеразная активность восстанавливается, а продолжительность жизни клеток значительно увеличивается.

Является ли постепенное укорочение теломер ключом к пониманию процесса старения? Определяет ли длина теломер при рождении продолжительность нашей жизни? Дальнейшие исследования в этой области могут привести к удивительным открытиям.

Некоторые вирусные РНК реплицируются РНК-зависимой РНК-полимеразой

Некоторые бактериофаги *E. coli*, включая f2, MS2, R17 и Q β , а также некоторые вирусы эукариот (в том числе вирус гриппа и вирус Синдбис, вызывающий одну из форм энцефалита) имеют РНК-геномы. Хромосомы этих вирусов представляют собой одноцепочечные молекулы РНК и функционируют также в качестве мРНК для синтеза вирусных белков; они реплицируются в клетках хозяина с помощью **РНК-зависимой РНК-полиме-**

разы (РНК-репликазы). Все РНК-содержащие вирусы, за исключением ретровирусов, должны кодировать белок с активностью РНК-зависимой РНК-полимеразы, поскольку клетки хозяина не образуют этот фермент.

РНК-репликаза большинства РНК-содержащих бактериофагов состоит из четырех субъединиц и имеет молекулярную массу около 210 000. Одна субъединица ($M_r = 65\,000$) — продукт гена репликазы, содержащегося в вирусной РНК; она содержит активный центр для репликации. Другие три субъединицы — это белки хозяина, обычно участвующие в синтезе клеточных белков: факторы элонгации *E. coli* Tu ($M_r = 30\,000$) и Ts ($M_r = 45\,000$) (которые доставляют молекулы аминокислот-тРНК к рибосомам) и белок S1 (часть рибосомной субъединицы 30S). Эти три белка хозяина помогают РНК-репликазе связаться с 3'-концами молекул вирусных РНК.

РНК-репликаза из клеток *E. coli*, инфицированных Q β , катализирует образование РНК, комплементарной вирусной РНК, по реакции, аналогичной реакции ДНК-зависимых РНК-полимераз. Синтез новых цепей РНК происходит в направлении 5'→3'; механизм идентичен механизму всех других реакций синтеза нуклеиновых кислот на матрице. РНК-репликаза использует в качестве матрицы РНК и не работает с ДНК. Она не имеет независимой корректирующей эндонуклеазной активности и допускает примерно столько же ошибок, сколько и РНК-полимераза. В отличие от ДНК- и РНК-полимераз РНК-репликазы специфичны к РНК из собственного вируса и обычно не реплицируют РНК клетки-хозяина. Вот почему в хозяйских клетках, содержащих много других молекул РНК, предпочтительно реплицируются именно РНК-содержащие вирусы.

Синтез РНК открывает важный подход к изучению биохимической эволюции

Сложность строения и высокая организация — вот, что отличает живые организмы от неживых систем, и это же главное в проявлении жизненных процессов. Поддержание жизни требует, чтобы *определенные* химические превращения происходили очень быстро — особенно те, которые используют внешние источники энергии для синтеза сложных и специализированных клеточных макромолекул. Жизнь зависит от мощных и



Карл Вёзе, 1928–2012



Френсис Крик, 1916–2004



Лесли Оргел, 1927–2007

избирательных катализаторов (ферментов) и от информационных систем, способных надежно сохранять копии этих ферментов и точно их воспроизводить для передачи из поколения в поколение. Хромосомы кодируют не модель клетки, а модели ферментов, которые создают и поддерживают клетку. Одновременная потребность в информации и в катализе — прямо-таки классическая головоломка на тему: что было сначала — информация, для которой нужна специфическая структура, или ферменты, необходимые для поддержания и передачи информации?

Разгадка структурной и функциональной сложности РНК привела в 1960-х гг. Карла Вёзе, Френсиса Крика и Лесли Оргела к заключению, что макромолекулы могут быть и носителями информации, и катализаторами. Открытие каталитических молекул РНК перевело это утверждение из разряда догадок в разряд гипотез и послужило причиной широкого распространения теории о том, что «мир РНК» мог иметь большое значение для перехода от пребиотической химии к жизни (см. рис. 1-34 в т. 1). Предком всех живых существ на нашей планете, который мог воспроизводить себя через поколения от самого зарождения жизни до настоящего времени, могла быть самореплицирующаяся РНК или же другой полимер с эквивалентными химическими характеристиками.

Как такой самореплицирующийся полимер мог возникнуть? Как он мог сохраниться во внешней среде, в которой не было в изобилии предшественников для его синтеза? Как, начав с такого полимера, эволюция могла создать современный ДНК-белковый мир? Для ответа на такие сложные вопросы нужны очень тщательные эксперименты, которые, возможно, позволят понять, как на планете Земля зародилась и эволюционировала жизнь.

Предполагаемое происхождение пуриновых и пиримидиновых оснований подтверждается экспериментами, разработанными для проверки гипотез о химическом составе пребиотического мира (с. 55–56 в т. 1). Начиная с простых молекул, которые могли присутствовать в древней атмосфере нашей планеты (CH_4 , NH_3 , H_2O , H_2), под действием электрических разрядов (например, молнии) возникали более реакционноспособные молекулы, такие как HCN и альдегиды, а затем совокупность аминокислот и органических кислот (см. рис. 1-33 в т. 1). По-видимому, когда появилось много таких молекул, как HCN , начали синтезироваться пурины и пиримидины. Ведь уже через несколько суток в концентрированном растворе цианида аммония, нагреваемого в сосуде с обратным холодильником, образуется до 0,5% аденина (рис. 26-40). Аденин мог быть первым и преобладающим нуклеотидным компонентом, появившимся на Земле. Интересно, что большинство кофакторов ферментов содержат в своем составе аденозин, хотя он напрямую не участвует в их функционировании (см. рис. 8-38 в т. 1). Возможно, этот простой синтез аденина из цианида подтверждает глубокие эволюционные связи.



Рис. 26-40. Возможная реакция синтеза аденина из цианида аммония в пребиотической атмосфере. Аденин образуется из пяти молекул цианида (выделены розовым цветом).

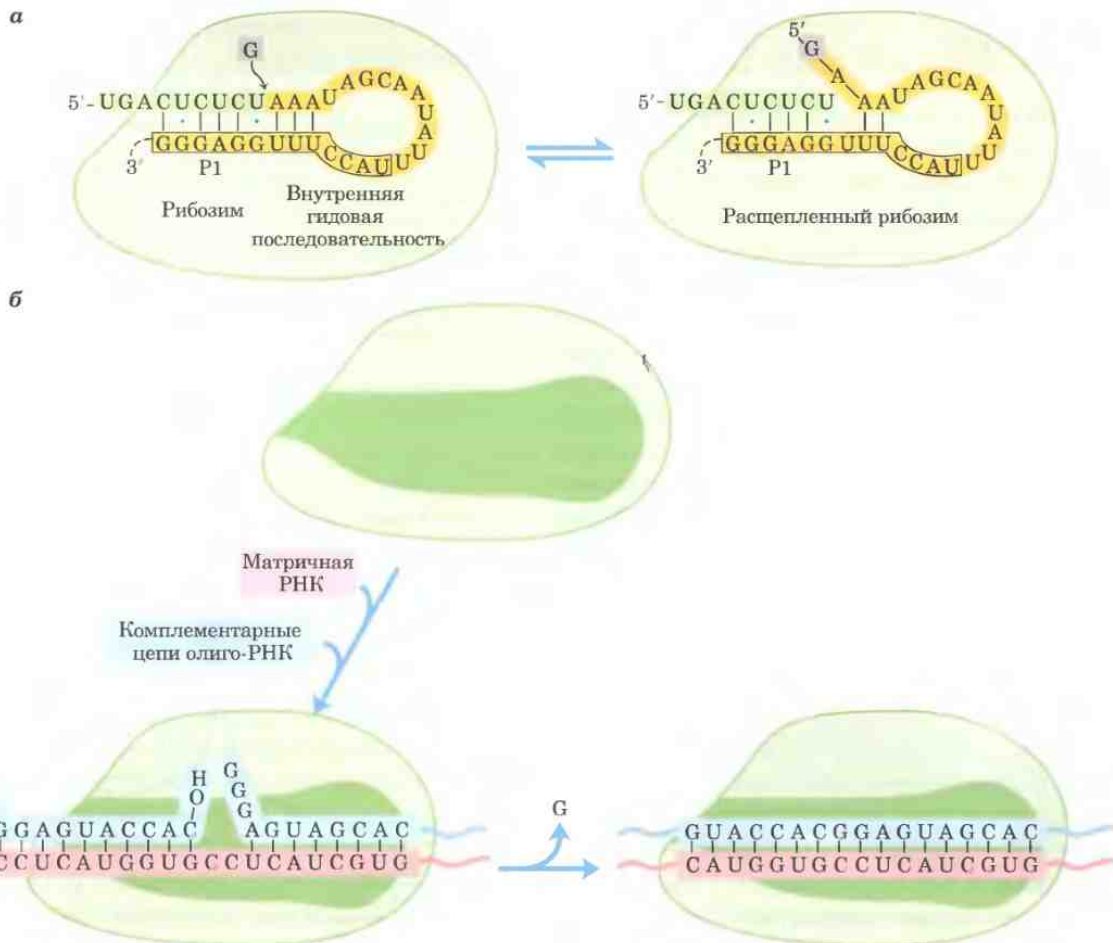


Рис. 26-41. РНК-зависимый синтез полимера РНК из олигонуклеотидных предшественников. *а* — на первой стадии удаления аутосплайсирующегося интрона группы I из предшественника рРНК у *Tetrahymena* происходит обратимая атака остатка гуанозина на 5'-сайт сплайсинга. Детально изображена только область P1, включающая в себя внутреннюю адаптерную (гидовую или направляющую) последовательность (в рамке) и 5'-сайт сплайсинга; остальная часть рибозима изображена в виде серо-зеленой глобулы. Полная вторичная структура рибозима представлена на рис. 26-30. *б* — если область P1 удаляется (что показано в виде темно-зеленой полости), рибозим сохраняет как свою трехмерную структуру, так и каталитическую способность. Новая молекула РНК, внесенная *in vitro*, может связываться с рибозимом таким же образом, как внутренняя адаптерная последовательность P1 на рис. *а*. Это обеспечивает матрицу для дальнейших реакций полимеризации РНК, в которых происходит спаривание внесенной РНК и комплементарных ей олигонуклеотидов. Рибозим может связывать эти олигонуклеотиды в реакции, *обратной* той, что показана на рис. *а*. На рис. *б* показана только одна такая реакция, но повторяющиеся акты связывания и катализа могут привести к РНК-зависимому синтезу длинных полимеров РНК.

Гипотеза «мира РНК» предполагает, что нуклеотидный полимер способен сам себя воспроизводить. Может ли рибозим осуществлять свой собственный синтез на матрице? Аутосплайсирующий интрон из рРНК *Tetrahymena* (рис. 26-30)

катализирует обратимую атаку остатка гуанозина на фосфодиэфирную связь в 5'-сайте сплайсинга (рис. 26-41). Если 5'-сайт сплайсинга и внутренняя адаптерная последовательность удаляются из интрона, остаток интрона может связывать цепи

Метод **SELEX** (от англ. *systematic evolution of ligands by exponential enrichment* — систематическая эволюция лигандов путем экспоненциального обогащения) используется для отбора **аптамеров** — олигонуклеотидных последовательностей, которые прочно связываются со специфической молекулярной мишенью. С помощью этой технологии при работе в автоматическом режиме удастся идентифицировать один или несколько аптамеров с желаемой специфичностью связывания.

На рис. 1 показано, как по технологии SELEX произвести отбор РНК-последовательностей, которые связываются с АТР. На стадии ① случайную смесь РНК-последовательностей подвергают «искусственному отбору», пропуская через смолу со связанным на ней АТР. На практике работают со смесью, содержащей примерно 10^{15} разных последовательностей, что соответствует полному набору последовательностей из 25 нуклеотидов ($4^{25} \approx 10^{15}$). В случае более длинных молекул РНК используемый пул РНК не всегда содержит все возможные РНК-последовательности. ② РНК, которые не связываются на колонке, отбрасывают; ③ молекулы, которые связываются с АТР, смывают с колонки солевым раствором и собирают. ④ Отобранные РНК амплифицируют с помощью обратной транскриптазы, получая большое количество комплементарных молекул ДНК, а затем с помощью РНК-полимеразы синтезируют РНК, комплементарные полученным молекулам ДНК. ⑤ Новый пул РНК подвергают той же процедуре отбора, и весь цикл опе-

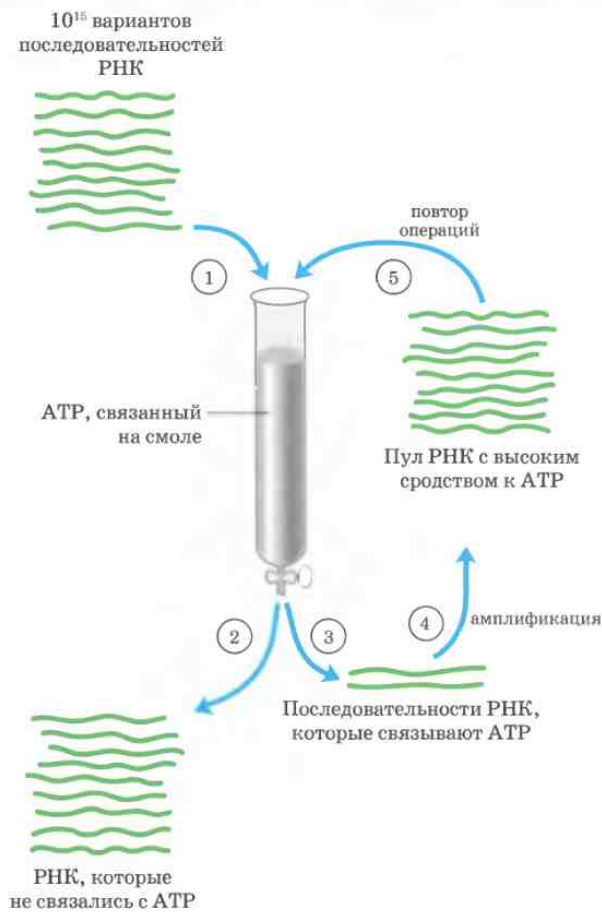


Рис. 1. Метод SELEX.

РНК, спаренные с короткими олигонуклеотидами. Часть оставшегося интактного интрона эффективно действует в качестве матрицы для выравнивания и легирования коротких олигонуклеотидов. По сути, это реакция, обратная атаке гуанозина на 5'-сайт сплайсинга, но ее результат — синтез коротких РНК-последовательностей по матрице.

Самореплицирующиеся макромолекулы быстро расходуют предшественников, которые в условиях пребиотической атмосферы поставлялись медленными процессами. Таким образом, для эффективного синтеза предшественников уже на ранних стадиях эволюции требовались метаболические пути, где катализаторами, возможно, были рибозимы. Известные сейчас ри-

бозимы имеют ограниченные функции, и от тех «древних» рибозимов, существование которых можно только предполагать, сейчас не осталось и следа. Чтобы глубже исследовать гипотезу «мира РНК», мы должны понять, способна ли РНК катализировать реакции, которые происходили в примитивных метаболических путях.

Обнаружению молекул РНК с новыми каталитическими функциями помог метод быстрого скрининга, позволяющий находить и выделять в смеси олигонуклеотидов последовательности, которые обладают определенными активностями. Этот метод известен как SELEX-технология — ускоренная эволюция в пробирке (см. доп. 26-3). Метод использовали для получения молекул РНК,

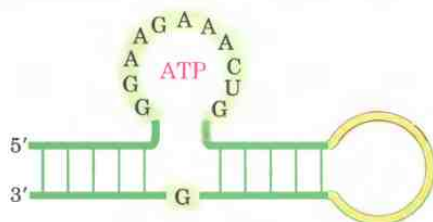


Рис. 2. Схема строения аптамера РНК, обладающего сродством к АТР. Нуклеотиды, обозначенные буквами, необходимы для связывания РНК с АТР.

раций повторяется 10 и более раз. В конце остается лишь несколько аптамеров (РНК-последовательности с выраженным сродством к АТР).

Структурные элементы, которые необходимы для связывания с АТР, показаны на рис. 2. Такие молекулы связываются с АТР (и с другими аденозинowymi нуклеотидами), $K_d < 50$ мкмоль. На рис. 3 приведена трехмерная структура комплекса аптамера из 36 нуклеотидов с АТР, полученного методом SELEX. Схема на рис. 2 как раз и соответствует этому аптамеру РНК.

 Помимо исследований функций РНК метод SELEX имеет важное практическое значение при идентификации коротких молекул РНК фармацевтического назначения. Разумеется, нельзя получить аптамеры, специфически связывающиеся со всеми потенциальными мишенями. Но эта технология быстрого

отбора и амплификации специфических олигонуклеотидных последовательностей из очень сложного пула дает возможность получения новых эффективных терапевтических средств. Например, можно отобрать РНК, которые прочно связываются с рецептором белка, выступающего над поверхностью клеточных мембран, в частности над клетками опухолей. Блокируя активность рецептора или направляя в клетку опухоли токсин, который связывается с аптамером, можно уничтожить клетки опухоли. Метод SELEX был использован для отбора аптамеров ДНК при обнаружении спор сибирской язвы. Изучаются и другие интересные применения этой технологии. ■

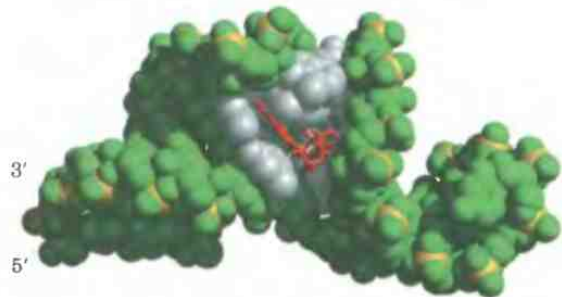


Рис. 3. (Взято из PDB ID 1RAW). Комплекс РНК-аптамера с АТР. В консервативных нуклеотидных последовательностях (формирующих полость, где и связывается АТР) основания показаны серым цветом, красный — связанный АТР.

которые связываются с аминокислотами, органическими красителями, нуклеотидами, цианокобаламином и другими молекулами. Исследователи выделили рибозимы, катализирующие образование сложноэфирной и амидной связей, протекание S_N2 -реакций, а также металлизирование порфиринов (введение в молекулы ионов металла) и образование углерод-углеродных связей. Благодаря эволюции кофакторов ферментов с нуклеотидной «ручкой», что облегчает связывание с рибозимом, спектр доступных для изучения химических процессов, протекание которых предполагается в примитивных системах, расширился.

Как мы увидим в следующей главе, синтез пептидных связей катализируют некото-

рые природные молекулы РНК; поэтому, по-видимому, вполне справедливо утверждение о том, что мир РНК изменился благодаря высокому каталитическому потенциалу белков. Синтез белков мог стать прорывом в эволюции мира РНК, но мог и ускорить его гибель. Роль носителя информации могла перейти от РНК к ДНК, поскольку ДНК химически более стабильна. РНК-репликаза и обратная транскриптаза, возможно, это сегодняшние версии ферментов, которые когда-то играли важную роль в осуществлении перехода к современной биосистеме, основанной на ДНК.

Молекулярные паразиты тоже могли прийти из мира РНК. С появлением первых неэффек-

Дополнение 26-4 Расширяющийся мир РНК, или транскрипты с неизвестной функцией

В книге многократно приводились современные оценочные данные относительно количества генов в геноме человека и многих других организмов. Эти оценки предполагают, что ученые знают о существовании гена, если они его «видят» на основании современных представлений о ДНК, РНК и белках. Но насколько оправдлив такой подход?

Как отмечалось в гл. 9, по-видимому, менее 2% генома человека кодирует белки. Даже с учетом интронов получается, что лишь небольшая часть генома транскрибируется в РНК, главным образом мРНК, кодирующую эти белки. Остальную часть генома иногда называют мусорной ДНК. Однако определение «мусорная» указывает лишь на недостаточность наших знаний, поскольку в настоящее время мы постепенно начинаем понимать, что большая часть генома полностью функциональна.

В попытках точнее определить размеры человеческого транскриптома ученые изобрели новые инструменты, позволяющие с высокой точностью идентифицировать последовательности генома, которые транскрибируются в РНК. Результаты исследований оказались неожиданными. Выяснилось, что транскрибируется значительно большая часть нашего генома, чем считали ранее. Большая часть образующейся РНК, по-видимому, не кодирует белков. Многие виды РНК не имеют базовых структурных элементов (например, 3'-поли(А)-последовательности), характеризующих мРНК. Зачем же нужна эта РНК?

Большую часть методов, применяемых для решения таких задач, можно отнести к одной из двух крупных категорий: клонирование кДНК и анализ на микрочипах. Создание библиотек кДНК для изучения транскрибируемых генов какого-либо эукариотического генома описано в гл. 9 (см. рис. 9-14 в

т. 1). Однако классические методы получения кДНК часто приводят к клонированию только части последовательности определенного транскрипта. Поскольку обратная транскриптаза может останавливаться в участках с определенной вторичной структурой мРНК или просто диссоциировать, обычно полно-размерные ДНК составляют не более 20% клонов в библиотеке кДНК. Это затрудняет использование таких библиотек для построения карт участков начала транскрипции (TSS — от англ. *transcription start sites*) и для изучения тех частей генов, которые кодируют N-концевые последовательности белков. На рис. 1 проиллюстрирован один из многочисленных методов, разработанных для преодоления этих ограничений. Усовершенствованные методы позволяют создавать такие библиотеки кДНК, в которых полно-размерные клоны составляют более 95%, что значительно расширяет возможности получения информации о составе клеточной РНК. Однако кДНК обычно создаются на основе транскриптов РНК, содержащих поли(А)-последовательности. Применение методов анализа на микрочипах в сочетании с методами приготовления кДНК, не связанными с наличием поли(А)-последовательностей (рис. 2), показало, что значительная часть РНК в клетках эукариот не имеет характерных концевых структур.

Полная картина еще не ясна, однако уже можно сделать некоторые выводы. Если исключить повторяющиеся последовательности (например, транспозоны), составляющие до половины генома млекопитающих, не менее 40% (а, возможно, и подавляющая часть) оставшейся геномной ДНК транскрибируется в РНК. По-видимому, существует больше видов РНК без поли(А)-«хвоста», чем видов РНК, имеющих эту последовательность. Большая часть таких РНК не

тивных самореплицирующихся молекул транспозиция оказалась потенциально возможной альтернативой репликации в качестве стратегии для успешного воспроизводства и выживания. Древние молекулы паразитической РНК могли просто встроиться в самореплицирующуюся молекулу путем каталитической трансэтерификации, а затем пассивно подвергаться репликации. Естественный отбор мог привести к тому, что транспозиция стала сайт-специфической и затрагивала

последовательности, которые не влияли на каталитическую активность РНК хозяина. Репликатеры и РНК-транспозоны могли существовать в примитивной симбиотической взаимосвязи, причем одни способствовали эволюции других. Современные интроны, ретровирусы и транспозоны могут быть рудиментами этого «путешествия на чужом горбу» древних паразитических молекул РНК. И сейчас эти элементы продолжают влиять на эволюцию своих хозяев.

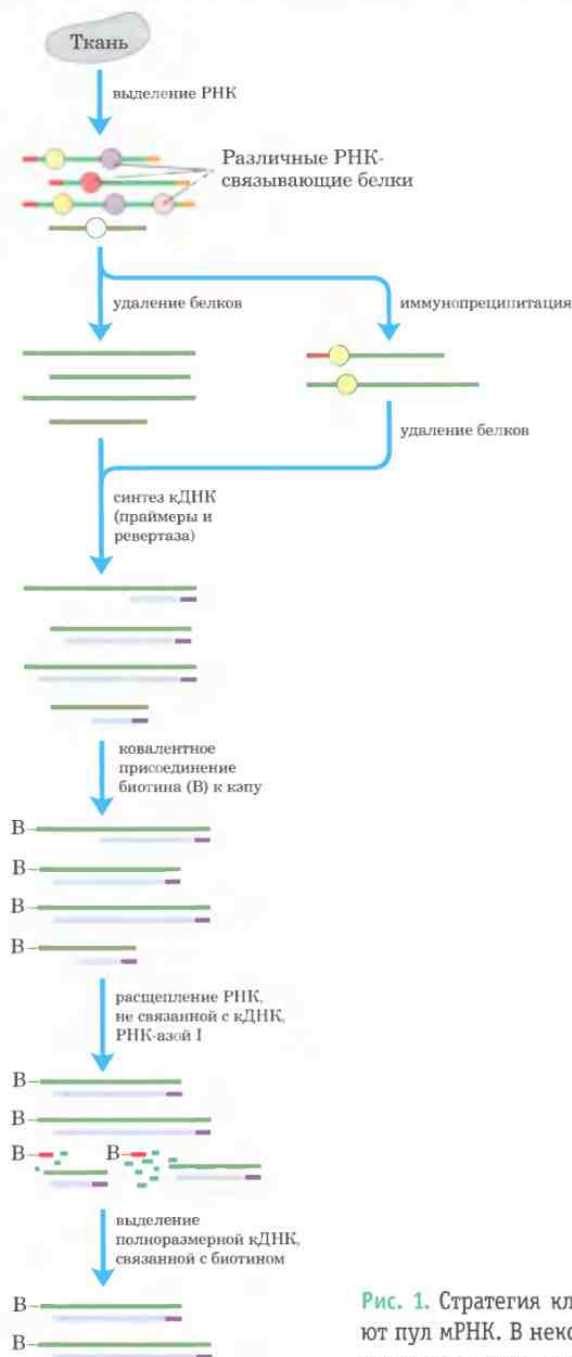


Рис. 1. Стратегия клонирования полноразмерных кДНК. Из образца ткани изолируют пул мРНК. В некоторых случаях мРНК, связанную с определенным белком, можно получить путем иммунопреципитации этого белка с последующим выделением связанной мРНК. Например, биотин ковалентно связывается с 5'-концом молекул мРНК, используя особые свойства 5'-кэпа. Чтобы запустить обратную транскрипцию молекул мРНК, применяют праймер поли(dT). РНКаза I расщепляет РНК, не входящую в состав гибридов ДНК-РНК, таким образом, уничтожаются неполные пары кДНК-РНК. Полноразмерные гибриды кДНК-РНК выделяют с помощью стрептавидиновых шариков (которые связываются с биотином), превращают в двухцепочечные ДНК и клонируют.

транспортируется в цитоплазму, а концентрируется исключительно в ядре. Многие участки генома транскрибируются с обеих цепей: один транскрипт комплементарен другому (такие последовательности называют антисмысловыми). Часто антисмысловые РНК оказываются задействованы в регуляции тех РНК, с которыми они спариваются. Многие виды РНК образуются лишь в одной или нескольких тканях, причем при анализе новых тканей каждый раз выявляются новые транскрипты. Таким образом, на настоящий момент еще не описан полный транскриптом ни одного организма. Более того, часто новые виды РНК транскрибируются с таких последовательностей генома (как те, что проиллюстрированы на рис. 9-20), которые расположены одинаково у нескольких организмов (так называемая синтенция — связь генов с определенными хромосомами). Такая эволюционная консервативность указывает на важную функцию этих РНК.

Среди новых видов РНК, о существовании которых стало известно лишь в последние 20 лет, можно назвать мякРНК, мяРНК и микроРНК. Были открыты новые TSS. Появляются новые классы молекул РНК. Обнаружены новые варианты альтернативного сплайсинга. И все эти открытия изменяют наши представления о генах. В геномах человека и мыши даже количество кодирующих белки транскриптов мРНК может оказаться гораздо больше, чем считалось до сих пор, и число идентифицированных генов белков тоже может возрасти. Однако функции большинства недавно обнаруженных транскриптов остаются неизвестными, их называют просто транскриптами с неизвестной функцией (TUF — от англ. *transcripts of unknown function*). Открытие целого мира этих новых РНК позволяет надеяться, что мы сможем лучше понять механизмы работы эукариотической клетки и, возможно, лучше представить себе мир РНК, существовавший в далеком прошлом.

Дополнение 26-4 Расширяющийся мир РНК, или транскрипты с неизвестной функцией (продолжение)

а Геномная последовательность

AAGCTTATGGTCCSTAATCATAACGTAGCTTCCSTAATCTGA

Олигонуклеотиды, синтезированные для микрочипа:

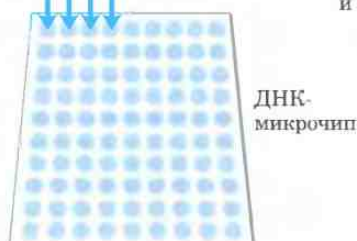
GCTTATGGTCCSTAATCATAACGTA

TGGTCCSTAATCATAACGTAGCTTC

CSTAATCATAACGTAGCTTCCSTAA

TCATAACGTAGCTTCCSTAATCTGA

и т. д.



ДНК-микрочип

б

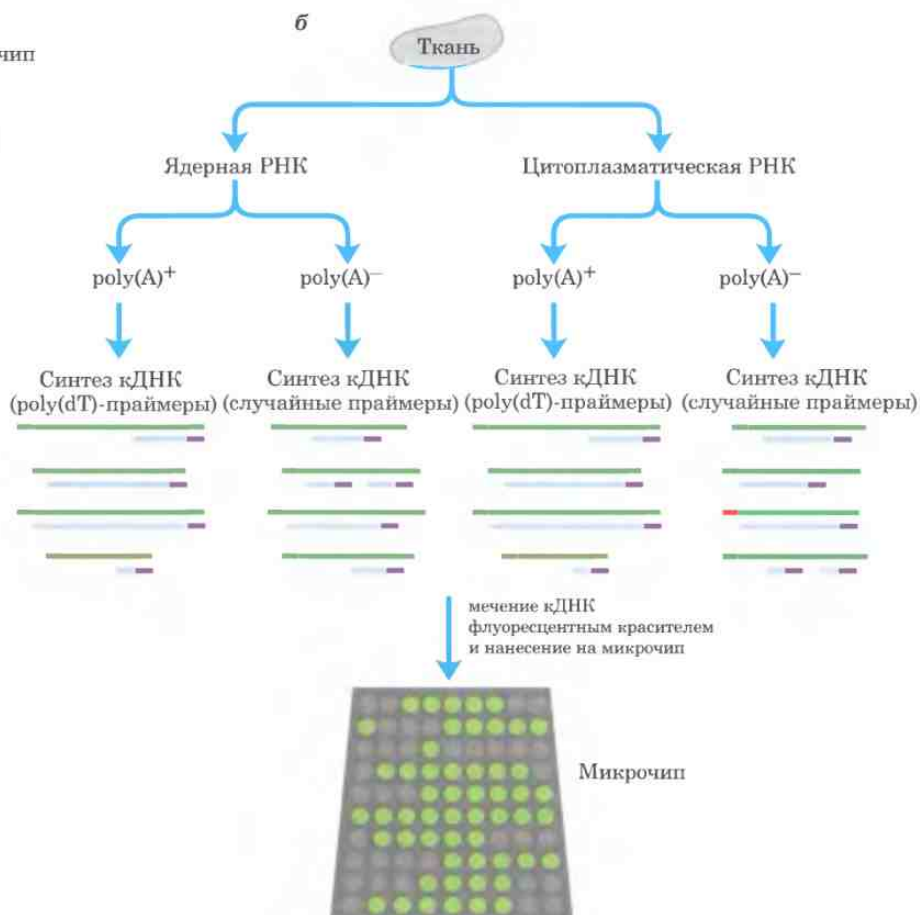


Рис. 2. Анализ транскриптома на микрочипах. *а* — на основе неповторяющихся участков генома синтезированы геномные микрочипы. Соседние олигонуклеотиды на микрочипе перекрываются по своим последовательностям, так что любой из нуклеотидов (например, Т, выделенный синим цветом) может быть представлен многократно. *б* — образец ткани фракционировали для разделения ядер и цитоплазмы, и из каждой фракции выделяли РНК. Образцы РНК, содержащие поли(А)-«хвост», отделяли от образцов, не имеющих этой последовательности, пропуская РНК через колонку со связанным поли(дТ). РНК с поли(А)-«хвостом» превращали в кДНК (рис. 1). Используя случайные праймеры, РНК без поли(А)-«хвоста» также превращали в кДНК. Не все образующиеся фрагменты ДНК по длине соответствуют тем РНК, на основе которых они были получены, однако общий набор ДНК содержит большую часть последовательностей исходных РНК. Затем кДНК метили и использовали в качестве зондов в микрочипах. Флуоресцентные метки на микрочипе позволяют определить транскрибированные РНК-последовательности.

«Мир РНК» — все еще гипотеза, в которой многое требует объяснения, однако экспериментальные доказательства подтверждают растущий список ключевых положений этой теории. Последующие эксперименты расширят наше понимание мироустройства. Важные недостающие фрагменты этой мозаики будут получены в области фундаментальной химии, в исследованиях живых клеток, возможно, даже на других планетах. Тем временем мир РНК продолжает расширяться (доп. 26-4).

Краткое содержание раздела 26.3

РНК-ЗАВИСИМЫЙ СИНТЕЗ РНК И ДНК

- РНК-зависимая ДНК-полимераза (обратная транскриптаза) была впервые обнаружена у ретровирусов, которые в процессе своего жизненного цикла должны превращать свой РНК-геном в двухцепочечную ДНК. Эти ферменты транскрибируют вирусную РНК в ДНК; данный процесс применяется для получения комплементарной ДНК.
- Многие эукариотические транспозоны родственны ретровирусам, и их транспозиция проходит через стадию образования РНК.
- Теломераза — фермент, который синтезирует теломерные концы линейных хромосом, — специализированная обратная транскриптаза, содержащая внутреннюю матрицу РНК.
- РНК-зависимые РНК-полимеразы, такие как репликазы РНК бактериофагов, специфичны по отношению к вирусной РНК, которую используют в качестве матрицы.
- Открытие молекул каталитической РНК и метаболических путей взаимного превращения РНК и ДНК позволило предположить, что важным этапом эволюции было появление РНК (или равнозначного полимера), способной катализировать собственную репликацию. Биохимический потенциал молекул РНК можно изучать методом SELEX, позволяющим быстро отбирать последовательности РНК со специфическим сродством или определенными каталитическими свойствами.

Ключевые термины

Термины, выделенные жирным шрифтом, объясняются в глоссарии.

5'-кэп 123	промотор 110
cAMP-рецепторный белок (CRP) 116	репрессор 116
аптамер 154	ретровирус 144
ДНК-зависимая РНК-полимераза 108	рибозим 122
комплементарная ДНК (кДНК) 146	рибосомная РНК (рРНК) 105,134
консенсусная последовательность 112	РНК-зависимая РНК-полимераза (РНК-репликаза) 151
матричная РНК (мРНК) 105	сплайсинг РНК 122
микроРНК 138	сплайсосома 127
мякРНК 135	теломераза 149
мяРНК 127	транскриптом 106
обратная транскриптаза 144	транскрипция 105
первичный транскрипт 122	транспортная РНК (тРНК) 105,136
поли(А)-«хвост» 130	факторы транскрипции 120
	футпринтинг 111
	хоминг 148

Дополнительная литература для дальнейшего изучения

Общая литература

Jacob, F. & Monod, J. (1961) Genetic regulatory mechanisms in the synthesis of proteins. *J. Mol. Biol.* **3**, 318–356.

Классическая статья, в которой озвучено много важных идей.

Lodish, H., Berk, A., Kaiser, C. A., Krieger, M., Scott, M. P., Bretscher, A., Ploegh, H., & Matsudaira, P. (2008) *Molecular Cell Biology*, 6th edn, W. H. Freeman & Company, New York.

ДНК-зависимый синтез РНК

Boeger, H., Bushnell, D., Davis, R., Griesenbeck, J., Lorch, Y., Strattan, J., Westover, K., & Kornberg, R. (2005) Structural basis of eukaryotic gene transcription. *FEBS Lett.* **579**, 899–903.

Bourbon, H. M., Aguilera, A., Ansari, A. Z., Asturias, F. J., Berk, A. J., Bjorklund, S., Blackwell, T. K., Borggreffe, T., Carey, M., Carlson, M., et al. (2004) A unified nomenclature for protein subunits of Mediator complexes linking transcriptional regulators to RNA polymerase II. *Mol. Cell* **14**, 553–557.

DeHaseth, P. L., Zupancic, M. L., & Record, M. T., Jr. (1998) RNA polymerase-promoter interactions: the comings and goings of RNA polymerase. *J. Bacteriol.* **180**, 3019–3025.

- Gruber, T. M. & Gross, C. A.** (2003) Multiple sigma subunits and the partitioning of bacterial transcription space. *Annu. Rev. Microbiol.* **57**, 441–466.
- Laine, J. P. & Egly, J. M.** (2006) When transcription and repair meet: a complex system. *Trends Genet.* **22**, 430–436.
- Mooney, R. A., Darst, S. A., & Landick, R.** (2005) Sigma and RNA polymerase: an on-again, off-again relationship? *Mol. Cell* **20**, 335–345.
- Murakami, K. S. & Darst, S. A.** (2003) Bacterial RNA polymerases: the whole story. *Curr. Opin. Struct. Biol.* **13**, 31–39.
- Svejstrup, J. Q., Conaway, R. C., & Conaway, J. W.** (2006) RNA polymerase II: a “Nobel” enzyme demystified. *Mol. Cell* **24**, 637–642.
- Thomas, M. C. & Chiang, C. M.** (2006) The general transcription machinery and general cofactors. *Crit. Rev. Biochem. Mol. Biol.* **41**, 105–178.

Процессинг РНК

- Blencowe, B. J.** (2006) Alternative splicing: new insights from global analyses. *Cell* **126**, 37–47.
- Butcher, S. E. & Brow, D. A.** (2005) Towards understanding the catalytic core structure of the spliceosome. *Biochem. Soc. Trans.* **33**, 447–449.
- Decatur, W. A. & Fournier, M. J.** (2003) RNA-guided nucleotide modification of ribosomal and other RNAs. *J. Biol. Chem.* **278**, 695–698.
- Gogarten, J. P. & Hilario, E.** (2006) Inteins, introns, and homing endonucleases: recent revelations about the life cycle of parasitic genetic elements. *BMC Evol. Biol.* **6**, 94.
- Granneman, S. & Baserga, S. J.** (2005) Crosstalk in gene expression: coupling and co-regulation of rDNA transcription, pre-ribosome assembly, and pre-rRNA processing. *Curr. Opin. Cell Biol.* **17**, 281–286.
- Huang, Y. Q. & Steitz, J. A.** (2005) SRprises along a messenger's journey. *Mol. Cell* **17**, 613–615.
- Kaberdin, V. R. & Blasi, U.** (2006) Translation initiation and the fate of bacterial mRNAs. *FEMS Microbiol. Rev.* **30**, 967–979.
- Parker, R. & Song, H. W.** (2004) The enzymes and control of eukaryotic mRNA turnover. *Nat. Struct. Mol. Biol.* **11**, 121–127.
- Rodriguez-Trelles, F., Tarrio, R., & Ayala, F. J.** (2006) Origins and evolution of spliceosomal introns. *Annu. Rev. Genet.* **40**, 47–76.
- Schneider, D. A., Michel, A., Sikes, M. L., Vu, L., Dodd, J. A., Salgia, S., Osheim, Y. S., Beyer, A. L., & Nomura, M.** (2007) Transcription elongation by RNA polymerase I is linked to efficient rRNA processing and ribosome assembly. *Mol. Cell* **26**, 217–229.
- Wienholds, E. & Plasterk, R. H. A.** (2005) MicroRNA function in animal development. *FEBS Lett.* **579**, 5911–5922.

РНК-зависимый синтез РНК или ДНК

- Blackburn, E. H., Greider, C. W., & Szostak, J. W.** (2006) Telomeres and telomerase: the path from maize, *Tetrahymena* and yeast to human cancer and aging. *Nat. Med.* **12**, 1133–1138.
- Boeke, J. D. & Devine, S. E.** (1998) Yeast retrotransposons: finding a nice, quiet neighborhood. *Cell* **93**, 1087–1089.
- Cech, T. R.** (2004) Beginning to understand the end of the chromosome. *Cell* **116**, 273–279.
- Frankel, A. D. & Young, J. A. T.** (1998) HIV-1: fifteen proteins and an RNA. *Annu. Rev. Biochem.* **67**, 1–25.
- Griffith, J. D., Comeau, L., Rosenfield, S., Stansel, R. M., Bianchi, A., Moss, H., & de Lange, T.** (1999) Mammalian telomeres end in a large duplex loop. *Cell* **97**, 503–514.
- Temin, H. M.** (1976) The DNA provirus hypothesis: the establishment and implications of RNA-directed DNA synthesis. *Science* **192**, 1075–1080.

Обсуждение первоначального значения обратной транскрипции у ретровирусов.

Рибозимы и эволюция

- Carninci, P.** (2007) Constructing the landscape of the mammalian genome. *J. Exp. Biol.* **210**, 1497–1506.
- Хороший обзор работ, показывающий, что транскриптомы млекопитающих гораздо более обширны, чем считалось раньше.
- DeRose, V. J.** (2002) Two decades of RNA catalysis. *Chem. Biol.* **9**, 961–969.
- Doudna, J. A. & Lorsch, J. R.** (2005) Ribozyme catalysis: not different, just worse. *Nat. Struct. Mol. Biol.* **12**, 395–402.
- Green, R. & Doudna, J. A.** (2006) RNAs regulate biology. *ACS Chem. Biol.* **1**, 335–338.
- Huttenhofer, A. & Vogel, J.** (2006) Experimental approaches to identify non-coding RNAs. *Nucleic Acids Res.* **34**, 635–646.
- Joyce, G. F.** (2002) The antiquity of RNA-based evolution. *Nature* **418**, 214–221.
- Kazantsev, A. V. & Pace, N. R.** (2006) Bacterial RNase P: a new view of an ancient enzyme. *Nat. Rev. Microbiol.* **4**, 729–740.
- Müller, U. F.** (2006) Re-creating an RNA world. *Cell. Mol. Life Sci.* **63**, 1278–1293.
- Narlikar, G. J. & Herschlag, D.** (1997) Mechanistic aspects of enzymatic catalysis: lessons from comparison of RNA and protein enzymes. *Annu. Rev. Biochem.* **66**, 19–59.
- Willingham, A. T. & Gingeras, T. R.** (2006) TUF love for “junk” DNA. *Cell* **125**, 1215–1220.
- Yarus, M.** (2002) Primordial genetics: phenotype of the ribocyte. *Annu. Rev. Genet.* **36**, 125–151.

Подробное обсуждение того, какой могла бы быть жизнь на основе РНК, и хороший обзор экспериментальных результатов, лежащих в основе этой гипотезы.

Вопросы и задачи

1. РНК-полимераза. (а) Сколько времени потребуется РНК-полимеразе *E. coli* для синтеза первичного транскрипта генов *E. coli*, кодирующих ферменты метаболизма лактозы (*lac*-оперон размером 5300 п. н., рассмотрен в гл. 28)? (б) На какое расстояние вдоль цепи ДНК может продвинуться транскрипционный «пузырек», образованный РНК-полимеразой, за 10 секунд?

2. Коррекция ошибок РНК-полимеразой. ДНК-полимеразы могут корректировать ошибки, а корректирующая способность РНК-полимеразы весьма ограничена. Учитывая, что замена единственного основания при репликации или транскрипции может привести к ошибке в синтезе белка, приведите возможное биологическое объяснение такого поразительного различия.

3. Посттранскрипционный процессинг РНК. Предскажите вероятные последствия мутации в последовательности (5')-AAUAAA в транскрипте эукариотической мРНК.

4. Кодированная и матричная последовательности. РНК-геном фага Q β представляет собой нематричную, или кодирующую, цепь, и при попадании в клетку он функционирует в качестве мРНК. Предположим, что РНК-репликаза фага Q β синтезирует главным образом матричную цепь РНК и включает именно ее, а не кодирующую цепь, в состав вирусных частиц. Что будет с матричными цепями, когда они попадут в новую клетку? Какой фермент нужно включить в состав вирусных частиц для успешного инфицирования клетки-хозяина?

5. Химия биосинтеза нуклеиновых кислот. Опишите три общих свойства реакций, катализируемых ДНК-полимеразой, РНК-полимеразой, обратной транскриптазой и РНК-репликазой. Чем фермент полинуклеотидфосфорилаза похож на эти три фермента и чем отличается от них?

6. Сплайсинг РНК. Каково минимальное число реакций трансэтерификации, необходимое для сплайсинга интрона из транскрипта мРНК? Поясните ответ.

7. Процессинг РНК. Если в клетках позвоночных блокируется сплайсинг мРНК, блокируются и реакции модификации рРНК. Объясните это наблюдение.

8. РНК-геномы. У РНК-содержащих вирусов относительно маленькие геномы. Например, одноцепочечные молекулы РНК ретровирусов состоят примерно из 10 000 нуклеотидов, а РНК фага Q β содержит лишь 4220 нуклеотидов. Зная свойства обратной транскриптазы и РНК-репликазы, описанные в этой главе, объясните, почему у этого вируса такой маленький геном.

9. Скрининг молекул РНК методом SELEX. Максимальное число разных последовательностей РНК, которые можно подвергнуть скринингу методом SELEX, составляет 10^{15} . (а) Предположим, вы работаете с олигонуклеотидами длиной 32 нуклеотида. Сколько вариантов этих молекул может быть в их случайном наборе, содержащем все возможные последовательности? (б) Какую часть из них (в %) можно проанализировать методом SELEX? (в) Предположим, вы хотите выбрать молекулу РНК, которая катализирует гидролиз определенного эфира. На основании того, что вам известно о катализе (гл. 6 в т. 1), предложите стратегию, которая позволит вам выбрать подходящий катализатор.

10. Отравление бледной поганкой. Бледная поганка (*Amanita phalloides*) содержит несколько опасных соединений, включая смертельный яд α -аманитин. Этот токсин блокирует элонгацию РНК путем связывания с эукариотической РНК-полимеразой II с очень высоким сродством; он смертельно опасен уже в такой низкой концентрации, как 10^{-8} М. Сначала у человека, съевшего этот гриб, проявляется желудочно-кишечное расстройство (вызываемое некоторыми другими токсинами). Потом эти симптомы исчезают, но через 48 ч человек умирает, обычно от поражения печени. Объясните, почему α -аманитину нужно столько времени, чтобы погубить человека?

11. Выявление штаммов возбудителя туберкулеза, устойчивых к рифампицину. Рифампицин — важный антибиотик, применяемый для борьбы с туберкулезом и другими заболева-

ниями, вызываемыми микобактериями. Некоторые штаммы *Mycobacterium tuberculosis* (возбудитель туберкулеза) устойчивы к рифампицину. Эти штаммы приобрели устойчивость в результате мутации гена *rpoB*, кодирующего β -субъединицу РНК-полимеразы. Рифампицин не может связаться с мутантной РНК-полимеразой и поэтому не блокирует инициацию транскрипции. Было обнаружено, что последовательности ДНК из большого числа рифампицин-устойчивых штаммов *M. tuberculosis* несут мутации в специфической области из 69 пар оснований гена *rpoB*. В одном хорошо изученном штамме с устойчивостью к рифампицину заменена одна пара оснований в гене *rpoB*, и это привело к единичной аминокислотной замене в кодирующий β -субъединице: вместо остатка His появился остаток Asp.

а) Основываясь на знаниях химии белков (гл. 3 и 4 в т. 1), предложите способ, который позволяет выявить рифампицин-устойчивый штамм, содержащий этот конкретный мутантный белок.

б) Основываясь на знаниях химии нуклеиновых кислот (гл. 8 в т. 1), предложите способ идентификации мутантного гена *rpoB*.

Биохимия в Интернете

12. Ген рибонуклеазы. Рибонуклеаза поджелудочной железы человека состоит из 128 аминокислотных остатков.

а) Какое минимальное число пар нуклеотидов требуется для кодирования данного белка?

б) мРНК из клеток поджелудочной железы копировали обратной транскриптазой для создания библиотеки ДНК человека. Последовательность мРНК, кодирующую панкреатическую рибонуклеазу человека, определяли путем секвенирования комплементарной ДНК (кДНК) из этой библиотеки, которая включает открытую рамку считывания для этого белка. Используйте базу данных Entrez database system (www.ncbi.nlm.nih.gov/Entrez), чтобы найти опубликованную последовательность этой мРНК (изучите базу данных CoreNucleotide для учетного номера D26129). Какова длина этой мРНК?

в) Как объяснить несоответствие между размером, который определили вы (пункт а), и реальным размером мРНК?

Анализ экспериментальных данных

13. Пример редактирования РНК. Рецептор АМРА (α -амино-3-гидрокси-5-метил-4-изоксазолпропионовой кислоты) — важный компонент нервной системы человека. Он присутствует в нескольких формах в разных нейронах, причем отчасти это разнообразие объясняется посттранскрипционными модификациями. Данная задача посвящена изучению механизмов такого редактирования РНК.

В 1991 г. Соммер с соавторами анализировали последовательность, кодирующую важный остаток Arg в молекуле рецептора АМРА. В последовательности кДНК (см. рис. 9-14 в т. 1) рецептора АМРА остатку аргинина соответствовал кодон CGG (см. рис. 27-7). Однако в геномной ДНК в этой позиции стоял кодон CAG (Gln).

а) Объясните, как такой результат согласуется с наличием посттранскрипционной модификации мРНК рецептора АМРА. Рютер с коллегами (1995) подробно исследовали данный вопрос. Сначала они разработали метод, позволяющий различать модифицированные и немодифицированные транскрипты с помощью секвенирования ДНК по Сенгеру (см. рис. 8-33 в т. 1). Они модифицировали метод, чтобы определить, было ли это основание А (как в CAG) или нет. Они синтезировали два ДНК-праймера на основе последовательности геномной ДНК в этом участке гена рецептора АМРА. Ниже представлены праймеры, а также последовательность геномной ДНК нематричной цепи для соответствующего участка гена рецептора АМРА; модифицированное основание А выделено красным цветом.

Чтобы определить, сохранилось ли основание А или было заменено на какое-то другое, Рютер с соавторами использовали описанную ниже процедуру.

1. Готовили кДНК, комплементарную мРНК, используя праймер 1, обратную транскриптазу, dATP, dGTP, dCTP и dTTP.
2. Удаляли мРНК.
3. Отжигали праймер 2, меченный ^{32}P , с кДНК и проводили реакцию с ДНК-полимеразой,

dGTP, dCTP, dTTP и ddATP (дидезокси-АТФ; см. рис. 8-33).

4. Денатурировали образующиеся дуплексы и разделяли их с помощью электрофореза в полиакриламидном геле (с. 136 в т. 1).

5. Детектировали меченную ^{32}P ДНК методом авторадиографии.

Ученые обнаружили, что из модифицированной мРНК образовалась ^{32}P ДНК длиной 22 нуклеотида, тогда как из немодифицированной мРНК образовалась ^{32}P ДНК длиной 19 нуклеотидов.

б) Используя представленные ниже последовательности, объясните, почему модифицированная и немодифицированная мРНК давали разные продукты.

Используя тот же подход для измерения доли транскриптов, подвергающихся редактированию при различных условиях, исследователи обнаружили, что в экстрактах культуры эпителиальных клеток (так называемых клеток HeLa) происходит активное редактирование мРНК. Для изучения механизмов этого процесса ученые приготовили активный экстракт клеток HeLa, как описано в таблице, и определяли его способность модифицировать мРНК рецептора АМРА. Протеиназа К расщепляет только белки, а микрококковая нуклеаза — только ДНК.

Образец	Предобработка	Доля редактированной мРНК, %
1	Нет	18
2	Протеиназа К	5
3	Нагревание до 65 °C	3
4	Нагревание до 85 °C	3
5	Микрококковая нуклеаза	17

в) Используйте эти данные для доказательства того, что в процессах редактирования мРНК принимают участие белки. В чем заключается наиболее слабое место этого доказательства?

Для точной идентификации редактированного основания Рютер с коллегами использовали описанную ниже процедуру.

1. Синтезировали мРНК, добавляя в реакционную смесь $[\alpha\text{-}^{32}\text{P}]\text{АТФ}$.

2. Модифицировали меченую мРНК путем инкубации с экстрактом клеток HeLa.

3. Гидролизировали модифицированную мРНК до отдельных нуклеотидмонофосфатов с помощью нуклеазы Р1.

4. Разделяли нуклеотидмонофосфаты методом тонкослойной хроматографии (см. рис. 10-24 в т. 1).

5. Идентифицировали образующиеся ^{32}P -меченные нуклеотидмонофосфаты методом авторадиографии.

В неизменной мРНК исследователи обнаружили только ^{32}P АМР, а в модифицированной мРНК содержался главным образом ^{32}P АМР, но также некоторое количество ^{32}P ІМР (инозинмонофосфат, см. рис. 22-34 в т. 2).

г) Почему в этом эксперименте использовали $[\alpha\text{-}^{32}\text{P}]\text{АТФ}$, а не $[\beta\text{-}^{32}\text{P}]\text{АТФ}$ или $[\gamma\text{-}^{32}\text{P}]\text{АТФ}$?

д) Почему использовали $[\alpha\text{-}^{32}\text{P}]\text{АТФ}$, а не $[\alpha\text{-}^{32}\text{P}]\text{GTP}$, $[\alpha\text{-}^{32}\text{P}]\text{CTP}$ или $[\alpha\text{-}^{32}\text{P}]\text{UTP}$?

е) Как полученные результаты исключают возможность удаления всего нуклеотида А (сахар, основание и фосфат) и его замены на нуклеотид І?

Далее исследователи модифицировали мРНК, меченную $[2,8\text{-}^3\text{H}]\text{АТФ}$, и повторили описанную выше процедуру. Метка ^3H содержалась лишь в мононуклеотидах АМР и ІМР.

(5') ...GTCTCTGGTTTTCCTTGGGTGCCTTTATGCAGCAAGGATGCGATATTTTCGCCAAG...
 Прайммер 1: CGTTCCTACGCTATAAAGCGGTTC (5')
 Прайммер 2: (5') CCTTGGGTGCCTTTA

ж) Как этот результат исключает возможность удаления основания А (при сохранении сахарофосфатного остова) при замене на основание Г? Каков в этом случае наиболее вероятный механизм редактирования?

з) Как замена остатка А на Г в мРНК объясняет замену Gln на Arg в белковой последовательности двух форм рецептора AMPA? (Подсказка. См. рис. 27-8).

Литература

Rueter, S. M., Burns, C. M., Coode, S. A., Mookherjee, P., & Emesont, R. B. (1995) Glutamate receptor RNA editing in vitro by enzymatic conversion of adenosine to inosine. *Science* **267**, 1491–1494.

Sommer, B., Köhler, M., Sprengel, R., & Seeburg, P. H. (1991) RNA editing in brain controls a determinant of ion flow in glutamate-gated channels. *Cell* **67**, 11–19.

Очевидно, что открытия Гарри [Ноллера] не объясняют, как началась жизнь, и не дают ответа на вопрос, что же было до РНК. Но накапливается все больше косвенных доказательств, что на нашей планете была жизнь и до нас, вот от нее мы и произошли — это факт!

— Джеральд Джойс, из комментария в *Science*, 1992

Метаболизм белка

27.1. Генетический код 166

27.2. Синтез белков 178

27.3. Транспорт и расщепление белков 210

Белки — конечный продукт большинства информационных метаболических путей. В каждый момент времени клетке требуются тысячи разных белков. Они должны синтезироваться в соответствии с потребностями клетки, доставляться к месту локализации и разрушаться, если в них больше нет нужды.

Установление механизма биосинтеза белка, очень сложного жизненно важного процесса, — один из самых замечательных успехов биохимии. У эукариот в синтезе белка участвует более 70 различных рибосомных белков, 20 или более ферментов для активации аминокислот, 10 или более вспомогательных ферментов и других белковых факторов для инициации, элонгации и терминации синтеза полипептидов, около 100 дополнительных ферментов для заключительного процессинга белков и 40 или более типов транспортных и рибосомных РНК. В целом в синтезе полипептидов задействовано почти 300 разных макромолекул. Многие из этих макромолекул включены в сложные трехмерные структуры рибосом.

Значение синтеза белка для клетки можно понять, если оценить клеточные ресурсы, направленные на реализацию этого процесса. На синтез белка может расходоваться до 90% химической энергии,

затрачиваемой клеткой на все реакции биосинтеза. В каждой клетке бактерий, архей или эукариот содержится от нескольких единиц до нескольких тысяч копий многих белков и молекул РНК. В типичной бактериальной клетке 15 000 рибосом, 100 000 белковых факторов и ферментов, связанных с синтезом белка, и 200 000 молекул тРНК, которые составляют более 35% сухой массы клетки.

Несмотря на то что синтез белка — очень сложный процесс, он происходит исключительно быстро. Полипептид из 100 аминокислотных остатков синтезируется в клетке *Escherichia coli* (при 37 °C) примерно за 5 секунд. Синтез тысяч различных белков в клетке регулируется таким образом, что их количество точно соответствует текущему метаболическому состоянию. Для поддержания необходимого состава и концентрации белков скорости процессов транспорта и расщепления должны соответствовать скорости синтеза. Благодаря многочисленным исследованиям мы постепенно приоткрываем занавес, скрывающий сложенный молекулярный танец, в ходе которого каждый белок занимает свое место в клетке и избирательно разрушается, если он уже не нужен.

В процессе изучения синтеза белка мы открыли мир каталитических молекул РНК, который мог существовать до того, как зародилась жизнь в ее современном виде. Исследователи установили строение бактериальных рибосом, что позволило понять процессы синтеза белка в клетке во всех изумительных подробностях. Что же они обнаружили? Белки синтезируются гигантскими РНК-ферментами!

27.1. Генетический код

Современные представления о биосинтезе белка основаны на трех больших научных открытиях. В начале 1950-х гг. Пол Замечник с сотрудниками провели серию экспериментов, чтобы выяснить, где в клетке происходит синтез белков. Они вводили крысам путем инъекции радиоактивно меченные аминокислоты, а через разные интервалы времени после инъекции у мертвого животного



Пол Замечник, 1912–2009

брали печень, гомогенизировали ее, фракционировали гомогенат центрифугированием и исследовали субклеточные фракции для обнаружения радиоактивного белка. Через несколько часов и суток после инъекции меченых аминокислот все субклеточные фракции содержали меченые белки. Однако если после инъекции проходили минуты, меченые белки обнаруживались только во фракции, содержащей маленькие рибонуклеопротеиновые частицы. Эти частицы, видимые в тканях животных с помощью электронного микроскопа, затем были идентифицированы как место синтеза белка из аминокислот; позднее их назвали рибосомами (рис. 27-1).

Малон Хогланд и Замечник сделали и второе ключевое открытие, обнаружив, что аминокислоты «активировались» при инкубации с АТФ и цитозольной фракцией клеток печени. Аминокислоты оказывались присоединенными к термостабильной растворимой РНК определенного типа, которая была открыта и описана Робертом Холли и позднее названа транспортной РНК (тРНК); в результате образовывались молекулы **аминоацил-тРНК**. Ферменты, которые катализируют этот процесс, называются **аминоацил-тРНК-синтетазами**.

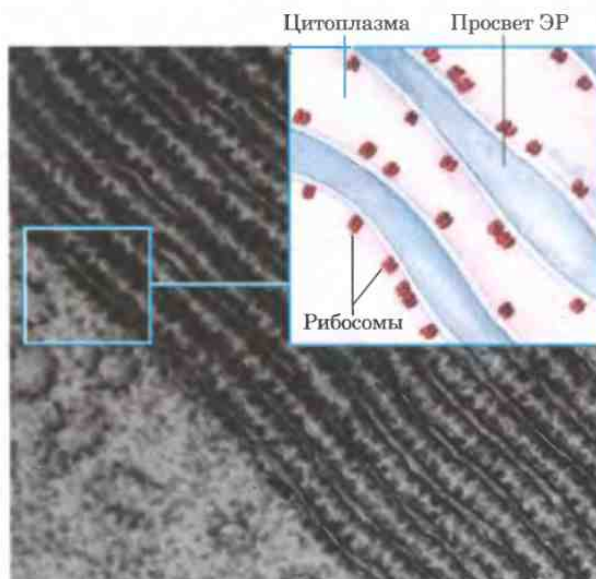


Рис. 27-1. Рибосомы и эндоплазматический ретикулум. Электронная микрофотография и схематическое изображение фрагмента клетки поджелудочной железы, на которых показано присоединение рибосом к внешней (обращенной к цитоплазме) поверхности эндоплазматического ретикулума (ЭР). Рибосомы выглядят как многочисленные маленькие точки по краям параллельно расположенных слоев мембран.

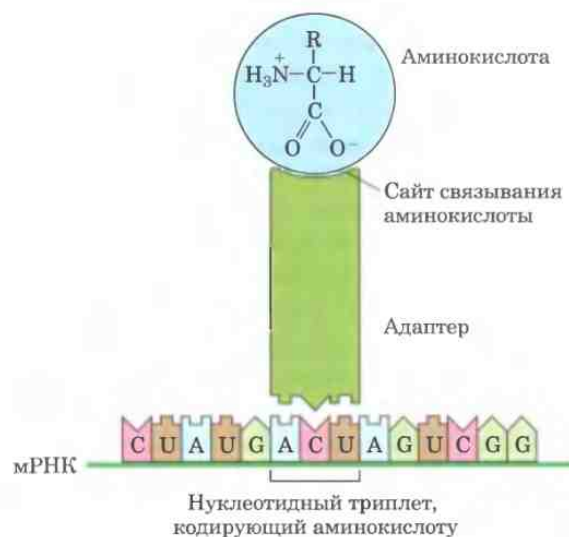


Рис. 27-2. Адаптерная гипотеза Крика. Теперь мы знаем, что аминокислота ковалентно связывается с 3'-концом молекулы тРНК, а специфический нуклеотидный триплет в молекуле тРНК взаимодействует с определенным триплетным кодоном в мРНК, образуя водородные связи между комплементарными основаниями.

Третье важное открытие появилось в результате исследований Френсиса Крика. Он поставил важный вопрос: каким образом генетическая информация, закодированная в четырехбуквенном языке нуклеиновых кислот, может переводиться на 20-буквенный язык белков? Роль адаптера могли бы выполнять маленькие молекулы нуклеиновой кислоты (возможно, РНК) — одна часть адаптерной молекулы связывается со специфической аминокислотой, другая часть распознает нуклеотидную последовательность, кодирующую данную аминокислоту в составе мРНК (рис. 27-2). Вскоре удалось проверить эту гипотезу. Адаптерная молекула тРНК переводила (транслировала) нуклеотидную последовательность мРНК в аминокислотную последовательность полипептида. Весь процесс направляемого мРНК синтеза белка часто называют просто **трансляцией**.

Вскоре после этих открытий были выявлены основные стадии синтеза белка и расшифрован генетический код, который определяет каждую аминокислоту.

Генетический код был расшифрован с помощью искусственных мРНК

К 1960-м гг. стало очевидно, что для кодирования каждой аминокислоты необходимы по меньшей мере три нуклеотидных остатка в ДНК. Четыре буквы кода ДНК (А, Т, G, C), сгруппированные по две, могут дать только $4^2 = 16$ различных комбинаций, что недостаточно для кодирования 20 аминокислот. При группировке буквенного кода ДНК по 3 возникают 64 комбинации ($4^3 = 64$).

Несколько ключевых принципов кодирования было установлено уже в ранних генетических исследованиях (рис. 27-3, 27-4). **Кодон** — триплет нуклеотидов, кодирующий определенную аминокислоту. Трансляция осуществляется таким образом, что эти нуклеотидные триплеты считываются в виде непрерывной последовательности. Первый кодон в последовательности определяет **рамку считывания**, в пределах которой каждый новый кодон начинается через три нуклеотидных остатка. Знаков пунктуации между кодонами нет. Аминокислотная последовательность белка определяется линейной последовательностью соседних триплетов. В принципе каждая одноцепочечная последовательность ДНК или мРНК может иметь три рамки считывания. Каждая рамка считывания содер-

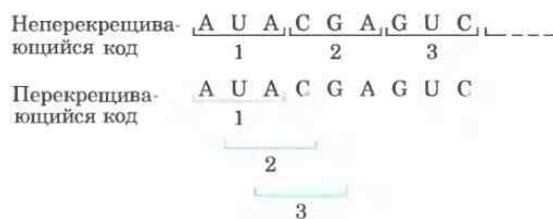


Рис. 27-3. Перекрывающийся и неперекрывающийся генетический код. В неперекрывающемся коде кодоны (пронумерованы последовательно) расположены подряд, т. е. не разделены нуклеотидами. В перекрывающемся коде некоторые нуклеотиды в мРНК относятся к нескольким разным кодонам. При триплетном коде с максимальным перекрытием многие нуклеотиды (например, третий слева (A)) относятся к трем кодонам. Обратите внимание, что в перекрывающемся коде триплетная последовательность первого кодона ограничивает возможные варианты последовательностей для второго кодона. Неперекрывающийся код обеспечивает значительно большую вариабельность нуклеотидов в соседних кодонах и, соответственно, возможных аминокислотных последовательностей, обозначаемых этим кодом. У всех известных в настоящее время организмов генетический код неперекрывающийся.

жит свою последовательность кодонов (рис. 27-5) но только одна из них соответствует конкретному белку. Остается вопрос: какие трехбуквенные кодоны каким аминокислотам соответствуют?

В 1961 г. Маршалл Ниренберг и Генрих Маттеи опубликовали работу, ставшую первым прорывом в расшифровке генетического кода. Они инкубировали синтетический полиуридилат (полиU) с экстрактом *E. coli*, GTP, АТР и смесью 20 аминокислот в 20 разных пробирках — каждая пробирка содержала одну радиоактивно меченную аминокислоту. Поскольку мРНК полиU состоит из большого количества триплетов UUU, на ней,



Маршалл Ниренберг,
1927–2010

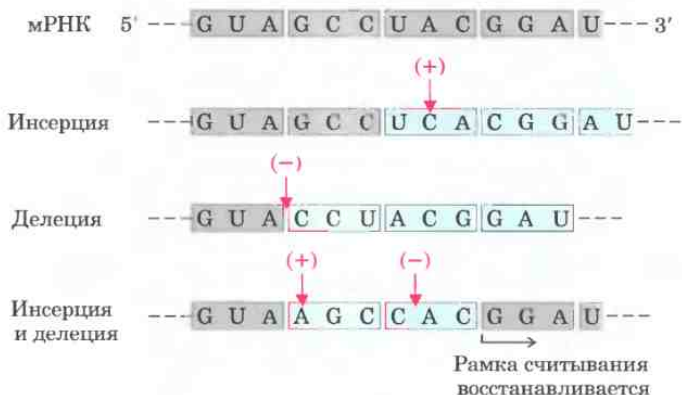


Рис. 27-4. Неперекрывающийся триплетный код. Принципы организации генетического кода были установлены с помощью многочисленных и разнообразных экспериментов, в том числе генетических экспериментов по изучению мутаций типа инсерций или делеций. Инсерция или делеция одной пары оснований (показано на примере транскрипции мРНК) изменяет последовательность триплетов неперекрывающегося кода; это изменение отражается на всех последующих аминокислотах, кодируемых мРНК. Сочетание инсерции и делеции изменяет отдельные аминокислоты, но в результате может восстановить исходную аминокислотную последовательность. Встраивание или удаление трех нуклеотидов (не показано) не меняет состава триплетов, и это доказывает, что кодон состоит из трех, а не из четырех или пяти нуклеотидов. Серым цветом отмечены кодоны, транскрибируемые с исходного гена; голубым цветом показаны новые кодоны, возникшие в результате инсерции или делеции.

как на матрице, может синтезироваться только полипептид, состоящий из одной аминокислоты, кодируемой триплетом UUU. В самом деле, радиоактивный полипептид образовался только в одной пробирке, содержащей радиоактивный фенилаланин. Ниренберг и Маттеи сделали вывод, что триплет UUU кодирует фенилаланин. С помощью аналогичного подхода было доказано, что полицитидилат (полиС) кодирует полипептид, состоящий исключительно из пролина (полипролин), а полиаденилат (полиА) кодирует полилизин. Полигуанилат не образует каких-либо пептидов в таком экстракте, поскольку он спонтанно формирует четырехцепочечные структуры (см. рис. 8-20), которые не могут связываться рибосомами.

Синтетические полинуклеотиды для этих экспериментов были получены с помощью полинуклеотидфосфорилазы (с. 26.2), которая катализирует образование РНК-полимеров, начиная с ADP, UDP, CDP и GDP. Этот фермент, открытый Северо Очоа, не нуждается в матрице и создает макромолекулы, состав которых зависит только от относительного содержания в среде нуклеозид-5'-дифосфатов. В присутствии одного UDP фермент синтезирует только полиУ. Если же его добавить к смеси из пяти частей ADP и одной части CDP, он образует полимер, в котором пять шестых составляют аденилаты, а одну шестую — цитидилаты. Это нерегулярный полимер, содержащий много триплетов AAA, меньше три-

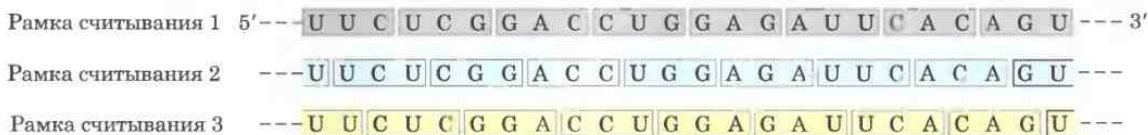


Рис. 27-5. Рамки считывания и генетический код. В неперекрывающемся триплетном коде все молекулы мРНК могут иметь до трех рамок считывания, которые здесь изображены разными цветами. Триплеты и, соответственно, кодируемые ими аминокислоты разные в каждой рамке считывания.

Таблица 27-1 Включение аминокислот в состав полипептидов в присутствии нерегулярных полимеров — РНК

Аминокислота	Наблюдаемая частота включения (Lys=100)	Предполагаемый нуклеотидный состав* соответствующего кодона	Ожидаемая частота включения, основанная на условной частоте для Lys = 100
Аспарагин	24	A ₂ C	20
Глутамин	24	A ₂ C	20
Гистидин	6	AC ₂	4
Лизин	100	AAA	100
Пролин	7	AC ₂ , CCC	4,8
Треонин	26	A ₂ C, AC ₂	24

Примечание. Представленные данные получены в одном из первых экспериментов по расшифровке генетического кода. Полипептид синтезировали на матрице синтетической РНК, содержащей только остатки А и С в соотношении 5:1, после чего определяли количественный и качественный состав аминокислот в составе полипептида. Далее, исходя из относительной частоты встречаемости остатков А и С в составе синтетической РНК и условно принимая частоту встречаемости кодона AAA (самый распространенный кодон) за 100, было подсчитано, что должно быть три варианта кодонов состава A₂C, каждый с частотой встречаемости 20; три варианта кодонов состава AC₂, каждый с частотой встречаемости 4, а относительная частота встречаемости кодона CCC должна составлять 0,8. Смысл кодона CCC установлен в предыдущих экспериментах с использованием последовательности поли(С).

* Эти данные ничего не говорят о последовательности нуклеотидов в составе кодона (конечно, за исключением кодонов AAA и CCC).

плетов AAC, ACA и CAA, относительно немного ACC, CCA и CAC и совсем мало триплетов CCC (табл. 27-1). С помощью разнообразных искусственных молекул мРНК, созданных с помощью полинуклеотидфосфорилазы из разных стартовых смесей ADP, GDP, UDP и CDP, исследователи вскоре идентифицировали состав триплетов, кодирующих почти все аминокислоты. Хотя эти эксперименты позволили выявить состав оснований в триплетах, последовательность оснований этим способом установить не удалось.

КЛЮЧЕВЫЕ ДОГОВОРЕННОСТИ. Далее в нашем изложении мы многократно будем встречаться с тРНК. Специфичность каждой тРНК к аминокислоте обозначается в виде верхнего индекса, например тРНК^{Ala}, а аминоацилированная тРНК пишется через дефис: аланил-тРНК^{Ala} или Ala-тРНК^{Ala}. ■

В 1964 г. Ниренберг и Филипп Ледер сделали другое важное открытие. Изолированные рибосомы *E. coli* могут связывать специфическую аминоацил-тРНК в присутствии соответствующей синтетической полинуклеотидной ма-

трицы. Например, рибосомы, инкубированные с поли(U) и фенилаланил-тРНК^{Phe} (Phe-тРНК^{Phe}), связывают молекулы РНК обоих типов, но, если рибосомы инкубируют с поли(U) и некоторыми другими аминоацил-тРНК, молекулы аминоацил-тРНК не связываются, поскольку не распознают триплеты в поли(U) (табл. 27-2). Даже последовательности из трех нуклеотидов могут специфически связываться с соответству-

Таблица 27-2

Тринуклеотиды, способные индуцировать специфическое связывание молекул аминоацил-тРНК с рибосомами

Тринуклеотиды	Относительное увеличение количества меченой аминоацил-тРНК, связанной с рибосомой*		
	Phe-тРНК ^{Phe}	Lys-тРНК ^{Lys}	Pro-тРНК ^{Pro}
UUU	4,6	0	0
AAA	0	7,7	0
CCC	0	0	3,1

Источник. По Nirenberg, M. & Leder, P. (1964) RNA code words and protein synthesis. *Science* **145**, 1399, с изм.

* Числа указывают, во сколько раз возросло количество связанного ¹⁴C в присутствии соответствующего тринуклеотида по сравнению с контролем (без тринуклеотида).

ющими молекулами тРНК, поэтому такие эксперименты можно проводить даже с короткими синтетическими молекулами олигонуклеотидов. С помощью данного метода удалось определить, какие аминокислоты тРНК связываются примерно с 50 из 64 возможных триплетных кодонов. Некоторым кодоном не соответствуют никакие молекулы тРНК или соответствует несколько. Для завершения расшифровки и подтверждения генетического кода требовался другой метод.

Примерно в то же время дополнительный метод анализа предложил Х. Гобинд Корана, который придумал химические способы синтеза полирибонуклеотидов с определенными повторяющимися последовательностями от двух



Х. Гобинд Корана,
1922–2011

до четырех оснований. Полипептиды, состоящие из этих молекул мРНК, содержат повторяющиеся последовательности из небольшого числа аминокислот. Эти последовательности в сочетании с информацией о случайных полимерах, синтезированных Ниренбергом с коллегами, позволяли точно определить соответствие кодонов и аминокислот. Например, в сополимере $(AC)_n$ повторяются кодоны ACA и CAC:

АСАСАСАСАСАСА. Полипептид, синтезированный на такой матрице, содержит равные количества треонина и гистидина. Поскольку установлено, что кодон гистидина содержит один А и два С (табл. 27-1), САС должен кодировать гистидин, а АСА — треонин.

Результаты многочисленных экспериментов позволили установить природу 61 из 64 возможных кодонов. Оставшиеся три кодона оказались стоп-кодонами — они прерывали синтез белка на основе синтетической полимерной РНК-матрицы (рис. 27-6). Назначение каждого триплетного кодона (рис. 27-7) было установлено к 1966 г. и подтверждено различными методами. Расшифровка генетического кода оценивается как одно из самых значимых открытий XX в.

Кодоны играют ключевую роль в трансляции генетической информации и определяют синтез специфических белков. Рамка считывания устанавливается на первом этапе трансляции мРНК и сохраняется на всем протяжении процесса при переходе от одного триплета к следующему. Если исходная рамка считывания теряет одно или два основания, или если трансляция каким-то образом перескакивает через нуклеотид в мРНК, нарушается порядок считывания всех последующих кодонов; в результате обычно образуется «бессмысленный» белок с искаженной аминокислотной последовательностью.

Несколько кодонов выполняют особые функции (рис. 27-7). **Инициаторный кодон** AUG — самый распространенный сигнал начала синтеза полипептида во всех клетках, а внутри последовательности он же кодирует метионин. **Стоп-кодоны** (UAA, UAG и UGA), иначе называемые терминирующими кодонами или нонсенс-кодонами, дают сигнал окончания синтеза полипептида и не кодируют никаких аминокислот. Некоторые исключения из этого правила обсуждаются в доп. 27-1.

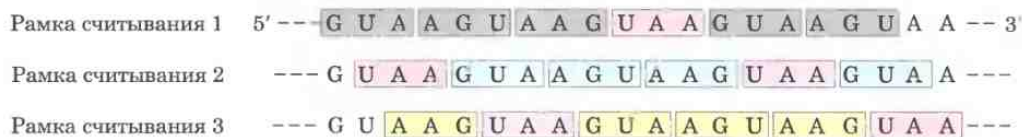


Рис. 27-6. Роль стоп-кодона в повторяющемся тетра nukлеотиде. Стоп-кодоны (розовый цвет) располагаются после каждого четвертого кодона в трех разных рамках считывания (показаны разными цветами). В зависимости от первоначального места связывания рибосомы происходит синтез дипептидов или трипептидов.

Первая буква кодона (5'-конец)

	Вторая буква кодона							
	U	C	A	G				
U	UUU Phe UUC Phe	UCU Ser UCC Ser	UAU Tyr UAC Tyr	UGU Cys UGC Cys				
	UUA Leu UUG Leu	UCA Ser UCG Ser	UAA Стоп UAG Стоп	UGA Стоп UGG Trp				
	CUU Leu CUC Leu	CCU Pro CCC Pro	CAU His CAC His	CGU Arg CGC Arg				
C	CUA Leu CUG Leu	CCA Pro CCG Pro	CAA Gln CAG Gln	CGA Arg CGG Arg				
	AUU Ile AUC Ile	ACU Thr ACC Thr	AAU Asn AAC Asn	AGU Ser AGC Ser				
	AUA Ile AUG Met	ACA Thr ACG Thr	AAA Lys AAG Lys	AGA Arg AGG Arg				
A	GUU Val GUC Val	GCU Ala GCC Ala	GAU Asp GAC Asp	GGU Gly GGC Gly				
	GUA Val GUG Val	GCA Ala GCG Ala	GAA Glu GAG Glu	GGA Gly GGG Gly				
G								

Рис. 27-7. «Словарь» аминокислотного кода в молекулах мРНК. Кодоны записывают в направлении 5'→3'. Третье основание каждого кодона (выделено жирным шрифтом) играет менее важную роль в спецификации аминокислоты, чем первые два. Три стоп-кодона изображены на розовом фоне, инициаторный кодон AUG — на зеленом. Всем аминокислотам, за исключением метионина и триптофана, соответствует более одного кодона. Как правило, кодоны, определяющие одну и ту же аминокислоту, отличаются только третьим основанием.

Как описано в разд. 27.2, инициация синтеза белка в клетке — сложный процесс, зависящий от инициаторных кодонов и других сигналов в мРНК. Теперь понятно, что эксперименты Ниренберга, Кораны и их коллег по выявлению функции кодонов не были бы успешными без инициаторных кодонов. К счастью, условия экспериментов были не очень строгими. В истории биохимии достаточно часто революционные прорывы в исследованиях происходили благодаря старанию людей и счастливому случаю.

В случайной последовательности нуклеотидов в среднем один из 20 кодонов в каждой рамке считывания оказывается концевым кодоном. Рамку считывания из 50 и более кодонов, не прерывающуюся стоп-кодоном, называют **открытой рамкой считывания (ОРС)**. Длинные открытые

рамки считывания обычно соответствуют генам, кодирующим белки. Для анализа баз данных нуклеотидных последовательностей с целью поиска открытых рамок считывания среди гигантского объема не кодирующей информации существуют сложные компьютерные программы. Для считывания непрерывного гена, кодирующего типичный белок с молекулярной массой 60 000, нужна открытая рамка из 500 или большего числа кодонов.

Удивительное свойство генетического кода заключается в том, что одной аминокислоте может соответствовать более одного кодона, поэтому генетический код называют **вырожденным**. Это не означает, что код некорректен: хотя одна аминокислота может записываться с помощью двух или нескольких кодонов, каждый кодон обозначает только одну аминокислоту. Вырожденность кодона неоднородна. Метионин и триптофан имеют по одному кодону, три аминокислоты (Leu, Ser, Arg) кодируются шестью кодонами каждая, у пяти аминокислот по четыре кодона, изолейцин имеет три кодона и девять аминокислот — два кодона (табл. 27-3).

Генетический код почти универсален. За исключением некоторых минорных вариаций в митохондриях, некоторых бактериях и некоторых одноклеточных эукариотах (доп. 27-1), кодоны аминокислот идентичны у всех известных на сегодняшний день видов организмов. Человек, кишечная палочка, табак, земноводные и вирусы используют один и тот же генетический код. Это позволяет предположить, что все живые существа имеют общего предка, чей генетический код сохранился на протяжении биологической эволюции. Даже исключения подтверждают общее правило.

Таблица 27-3 Вырожденность генетического кода

Аминокислота	Число кодонов	Аминокислота	Число кодонов
Met	1	Tyr	2
Trp	1	Ile	3
Asn	2	Ala	4
Asp	2	Gly	4
Cys	2	Pro	4
Gln	2	Thr	4
Glu	2	Val	4
His	2	Arg	6
Lys	2	Leu	6
Phe	2	Ser	6

Дополнение 27-1 Исключение, подтверждающее правило: природные вариации генетического кода

В биохимии, как и в других дисциплинах, исключения из общих правил затрудняют преподавание и расстраивают студентов. В то же время исключения из правил учат нас, что жизнь сложна, и вдохновляют на удивительные открытия. Кроме того, понимание сути исключений может неожиданным образом подтвердить правило.

Казалось бы, в генетическом коде немного возможностей для вариаций. Даже замена одной аминокислоты может оказать разрушительное действие на структуру белка. Тем не менее вариации кода действительно наблюдаются у некоторых организмов, и эти вариации интересны и поучительны. Типы вариаций и их исключительность являются убедительным подтверждением общего эволюционного происхождения всех живых существ.

Для изменения кода модификации должны затронуть гены одной или нескольких тРНК, причем таким образом, чтобы изменился антикодон. В результате такого изменения специфическая аминокислота встраивается в аминокислотную последовательность всякий раз, когда в последовательности мРНК встречается данный кодон, который в норме (см. рис. 27-7) не кодирует эту аминокислоту. Генетический код определяется двумя элементами: (1) антикодонами тРНК, которые указывают, где в растущем полипептиде размещается конкретная аминокислота, и (2) специфичностью аминоацил-тРНК-синтетаз, подбирающих аминокислоты для каждой молекулы тРНК.

Большинство внезапных изменений кода может иметь катастрофические последствия для клеточных белков, поэтому модификации наиболее вероятны там, где их эффект минимален, например, в маленьких геномах, кодирующих лишь несколько белков. Кроме того, биологические последствия изменения кода сравнительно невелики, если они происходят в трех стоп-кодонах, которые обычно не встречаются *внутри* генов (см. доп. 27-4 по поводу исключений из *этого* правила). Именно такая картина и наблюдается в действительности.

Среди немногих известных вариаций генетического кода большинство наблюдается в митохондриальной

ДНК (мтДНК), в которой закодировано всего от 10 до 20 белков. Митохондрии содержат собственные молекулы тРНК, поэтому вариации их генетического кода не оказывают существенного влияния на геном клетки. Большинство известных изменений в митохондриях (и единственные изменения кода, обнаруженные в клеточных геномах) затрагивают стоп-кодона. Эти изменения влияют на синтез продуктов только некоторых генов, а иногда их действие сведено к минимуму из-за наличия в генах большого (избыточного) количества стоп-кодонов.

У позвоночных мтДНК содержат гены 13 белков, двух рРНК и 22 тРНК (см. рис. 19-38 в т. 2). Редкие случаи изменения кода и необычный набор качающихся оснований в кодонах позволяют считать митохондриальные гены с помощью лишь 22 тРНК, в отличие от нормального кода, для которого требуется 32 тРНК. Эти изменения в митохондриях можно воспринимать как оптимизацию генома, поскольку уменьшение размера генома дает органелле преимущества в репликации. Для четырех семейств кодонов, в которых аминокислота полностью определяется первыми двумя нуклеотидами, достаточно по одной тРНК с остатком U в первом (качающемся) положении в антикодоне: либо U спаривается каким-то образом с любым из четырех возможных оснований в третьем положении кодона, либо реализуется механизм «два из трех», когда спаривание в третьем положении не требуется. Другая группа тРНК распознает кодоны либо с A, либо с G в третьем положении, а третья группа распознает U или C. таким образом, практически все тРНК распознают или два, или четыре кодона.

В нормальном коде только двум аминокислотам соответствует по одному кодону: метионину и триптофану (см. табл. 27-3). Если все митохондриальные тРНК распознают два кодона, следует предположить, что в митохондриях для Met и Trp существуют дополнительные кодоны. И действительно, одна наиболее распространенная вариация кода касается изменения смысла обычного стоп-кодона UGA, который в данном случае кодирует триптофан. Молекула тРНК^{Trp} встраи-

«Качание» позволяет некоторым молекулам тРНК распознавать более одного кодона

Если несколько разных кодонов определяют одну аминокислоту, они обычно различаются только третьим основанием (расположенным на 3'-конце). Например, аланин кодируется триплетами

GCU, GCC, GCA и GCG. Кодоны для большинства аминокислот можно обозначить условной формулой XY^A_G или XY^U_C . Именно две первые буквы в каждом кодоне определяют аминокислоту, и эта особенность имеет ряд интересных последствий.

Таблица 1 Известные варианты кодонов в митохондриях

	Кодоны*				
	UGA	AUA	AGA AGG	CUN	CGG
Нормальное назначение кодона	Стоп	Ile	Arg	Leu	Arg
Животные					
Позвоночные	Trp	Met	Стоп	+	+
<i>Drosophila</i>	Trp	Met	Ser	+	+
Дрожжи					
<i>Saccharomyces cerevisiae</i>	Trp	Met	+	Thr	+
<i>Torulopsis glabrata</i>	Trp	Met	+	Thr	?
<i>Schizosaccharomyces pombe</i>	Trp	+	+	+	+
Мицелиальные грибы	Trp	+	+	+	+
Трипаносомы	Trp	+	+	+	+
Высшие растения	+	+	+	+	Trp
<i>Clamydomonas reinhardtii</i>	?	+	+	+	?

* N обозначает любой нуклеотид; + — кодон имеет то же назначение, что и в нормальном коде;

? — кодон не встречается в данном митохондриальном геноме.

васт остаток Trp как на месте UGA, так и на месте стандартного кодона Trp, а именно, UGG. Второе наиболее распространенное изменение касается кодона AUA, который в данном случае означает не Ile, а Met; нормальный кодон метионина AUG тоже действует, и одна тРНК распознает оба варианта. Известные вариации кода в митохондриях обобщены в табл. 1.

Если обратить внимание на наиболее редкие изменения кода клеточных геномов (отличающиеся от митохондриальных), мы обнаружим, что у бактерий единственная известная вариация опять заключается в использовании UGA для кодирования остатков Trp. Это изменение встречается в самых простых свободноживущих клетках — в бактерии *Mycoplasma capricolum*. Среди эукариот вариации кода вне митохондрий наблюдаются у немногочисленных видов ресничных простейших, у которых оба стоп-кодона UAA и UAG могут кодировать глутамин. Известны также редкие, но интересные случаи, когда стоп-кодоны используются для кодирования

аминокислот, не входящих в число 20 стандартных аминокислот (см. доп. 27-3).

Изменения не обязательно касаются всех специфических кодонов в данном геноме: кодон не всегда кодирует одну и ту же аминокислоту. Например, у большинства бактерий, включая *E. coli*, кодон GUG (Val) иногда используется в качестве инициаторного кодона, означающего метионин. Это происходит только в тех генах, в которых кодон GUG расположен надлежащим образом по отношению к иницилирующим трансляцию последовательностям мРНК (разд. 27.2).

Эти вариации свидетельствуют о том, что код не столь универсален, как считалось ранее, но его варибельность строго ограничивается. Вариации являются очевидными производными обычного кода, и примеров совсем другого кода пока не обнаружено. Ограниченное число вариантов кода подтверждает идею, что вся жизнь на нашей планете эволюционировала из единого (мало варибельного) генетического кода.

Спаривание транспортных РНК с кодонами мРНК осуществляется через последовательность трех оснований тРНК, называемую **антикодоном**. Первое основание кодона в мРНК (в направлении 5'→3') образует пару с третьим основанием антикодона (рис. 27-8, а). Если триплет антикодона

тРНК распознает только один кодон в мРНК, который по всем трем позициям удовлетворяет уотсон-криковскому принципу соответствия оснований, клетки должны иметь разные молекулы тРНК для каждого кодона. Однако это не так, поскольку в некоторых тРНК антикодоны содержат

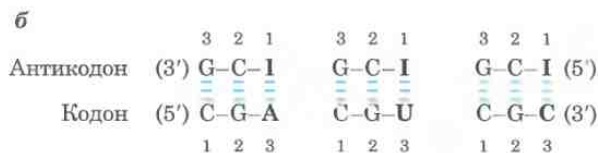
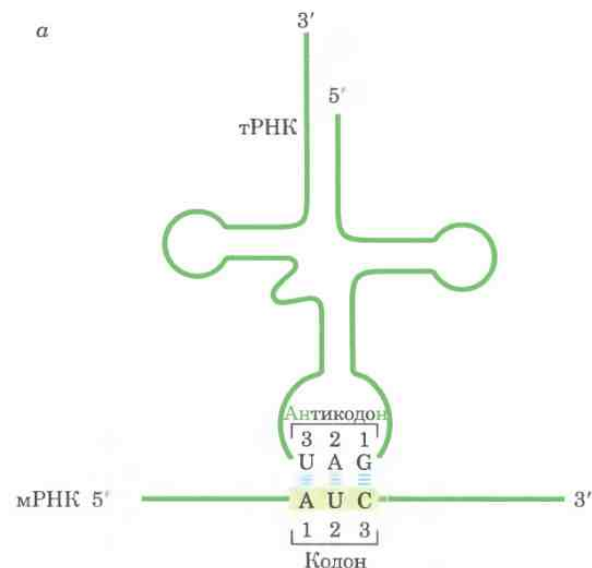


Рис. 27-8. Связывание кодона с антикодоном. **а** — молекулы РНК имеют противоположную направленность. Молекула тРНК изображена традиционным образом в конфигурации клеверного листа. **б** — три варианта спаривания кодона с антикодоном при наличии инозината в составе антикодона в тРНК.

нуклеотид инозинат (I), имеющий необычное основание гипоксантин (см. рис. 8-5, б в т. 1). Инозинат может образовывать водородные связи с тремя нуклеотидами (U, C и A; рис. 27-8, б), хотя связи в таких парах намного слабее, чем водородные связи в уотсон-криковских парах (G=C и A=U). У дрожжей одна молекула тРНК^{Arg} имеет антикодон (5')-ICG, который распознает три кодона аргинина: (5')-CGA, (5')-CGU, (5')-CGC. Первые два основания в этих кодонах идентичны (CG) и образуют пары с соответствующими основаниями антикодона строго по правилу Уотсона-Крика, но третье основание (A, U или C) образует слабые водородные связи с остатком I в первой позиции антикодона.

Изучение спаривания этих и других кодонов с антикодонами привело Крика к выводу, что третье основание в большинстве кодонов часто достаточно слабо связано с соответствующим основанием антикодона; иными словами, третье основание таких кодонов и первое основание соответствующих антикодонов проявляют нестрогое соответствие, или «качаются». Крик сформулировал четыре положения, названных **гипотезой качания**:

1. Первые два основания кодона мРНК всегда формируют канонические пары (пары Уотсона-Крика) с основаниями антикодона в тРНК и в основном определяют соответствующую аминокислоту.

2. Первое основание антикодона (при считывании в направлении 5'→3'; это основание спаривается с третьим основанием кодона) определяет число кодонов, распознаваемых молекулой тРНК. Если первое основание

Таблица 27-4	Как качающиеся основания антикодона определяют число кодонов, которые может распознать тРНК
1. Один распознаваемый кодон:	
Антикодон	(3') X – Y – C (5') (3') X – Y – A (5')
Кодон	(5') X – Y – G (3') (5') X – Y – U (3')
2. Два распознаваемых кодона:	
Антикодон	(3') X – Y – U (5') (3') X – Y – G (5')
Кодон	(5') X – Y – A (3') (5') X – Y – C (3')
3. Три распознаваемых кодона	
Антикодон	(3') X – Y – I (5')
Кодон	(5') X – Y – A (5')

Примечание. X и Y — основания, комплементарные основаниям X' и Y' соответственно; образуют с ними уотсон-криковские пары. Качающиеся пары оснований в 3'-положении кодонов и в 5'-положении антикодонов выделены розовым цветом.

антикодона С или А, спаривание оснований специфично, и такая тРНК распознает только один кодон. Если первое основание U или G, связывание менее специфичное, и тРНК может узнавать два разных кодона. Если первым (качающимся) нуклеотидом антикодона является инозин (I), тРНК может распознать три разных кодона — максимальное число для любой тРНК. Эти принципы обобщены в табл. 27-4.

3. Если аминокислота определяется несколькими кодонами и если эти кодоны различаются первым или вторым основанием, то для каждого кодона нужна своя тРНК.
4. Для трансляции всех кодонов (их 61) нужно как минимум 32 тРНК (31 для кодирования аминокислот и 1 для инициации).

Качающееся (третье) основание кодона вносит определенный вклад в специфичность связывания, но, поскольку связывается с соответствующим основанием антикодона достаточно слабо, это позволяет тРНК быстро диссоциировать из комплекса с кодоном в ходе синтеза белка. Если бы все три основания кодона образовывали с тремя основаниями антикодона правильные уотсон-криковские пары, тРНК слишком медленно покидала бы комплекс и это могло значительно ограничить скорость синтеза белка. При взаимодействии кодона и антикодона соблюдается баланс между точностью и скоростью синтеза.

Генетический код позволяет понять, каким образом информация о последовательности белка сохраняется в нуклеиновых кислотах, и дает ключ к разгадке того, как эта информация транслируется в белок. Теперь обратимся к молекулярным механизмам процесса трансляции.

Считывание последовательности зависит от сдвига рамки и редактирования РНК

После того как в процессе синтеза белка устанавливается рамка считывания, кодоны начинают транслироваться без перекрывания и пропусков до момента, пока рибосомный комплекс не встретит стоп-кодон. Две другие возможные рамки считывания обычно не содержат полезной генетической информации, однако некоторые гены, их немного, устроены таким образом, что на определенной стадии трансляции мРНК рибосомы ошибаются, что приводит к сдвигу рамки считывания, начиная с этой точки. Возможно, этот механизм позволяет синтезировать с одного транскрипта несколько родственных, но не полностью идентичных белков или регулировать синтез белка.

Один из наиболее хорошо изученных случаев **сдвига рамки считывания** — трансляция мРНК перекрывающихся генов *gag* и *pol* вируса саркомы Рауса (см. рис. 26-35). Рамка считывания гена *pol* отстоит на одну пару оснований влево по сравнению с рамкой считывания гена *gag* (рис. 27-9).

Продукт гена *pol* (обратная транскриптаза) образуется на основе той же мРНК, что используется для синтеза продукта гена *gag* (см. рис. 26-34). Образующийся длинный полипротеин, или белок *gag-pol*, затем подвергается протеолитическому расщеплению, укорачивается, превращаясь в зрелый белок — обратную транскриптазу. Для образования полипротеина необходим сдвиг рамки считывания в области перекрывания генов, поскольку это позволяет рибосоме миновать стоп-кодон UAG на конце гена *gag* (выделен розовым цветом на рис. 27-9).

Сдвиг рамки происходит приблизительно в 5% случаев трансляции на этой мРНК, так что полипротеин *gag-pol* (в итоге — обратная транскрип-

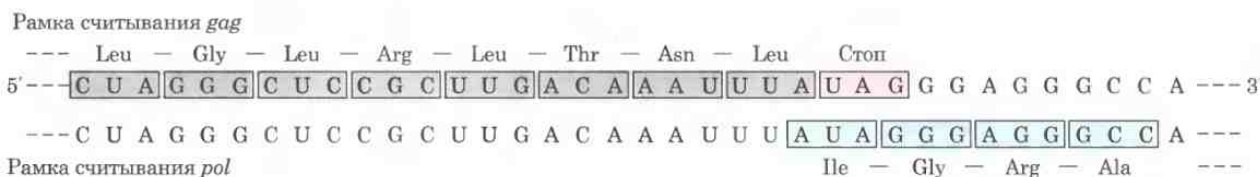


Рис. 27-9. Сдвиг рамки считывания в транскриптах у ретровирусов. Представлен участок перекрывания генов *gag-pol* в РНК вируса саркомы Рауса.

таза) синтезируется в 20 раз реже продукта гена *gag*, но этого вполне достаточно для эффективной репродукции вируса. У некоторых ретровирусов сдвиг рамки считывания позволяет транслировать еще более длинный полипротеин, в состав которого входит продукт гена *env*, слитый с продуктами генов *gag* и *pol* (см. рис. 26-34). Аналогичный механизм позволяет синтезировать субъединицы τ и γ ДНК-полимеразы III *E. coli* на основе одного транскрипта гена *dnaX* (см. табл. 25-2).

Иногда перед трансляцией происходит редактирование мРНК. Редактирование РНК может заключаться в добавлении, удалении или замене нуклеотидов, в результате чего изменяется смысл транскрипта. Удаление или добавление нуклеотидов чаще всего наблюдается в РНК из геномов митохондрий и хлоропластов эукариот. В этом механизме задействован особый тип молекул РНК, кодируемых в тех же органеллах. Последовательности этих РНК комплементарны последовательностям модифицируемых мРНК. Эти руководящие (гидовые) молекулы РНК (рис. 27-10) служат матрицей при редактировании.

Примером редактирования путем введения дополнительных нуклеотидов могут служить первичные транскрипты генов, кодирующих субъединицу II цитохромоксидазы в митохондриях некоторых протистов. Эти транскрипты не соответствуют полностью той последовательности, которая должна быть на С-конце белково-

го продукта. В ходе посттранскрипционной модификации в последовательность встраиваются четыре остатка урацила, что сдвигает рамку считывания. На рис. 27-10 изображены встроенные остатки U в небольшом фрагменте транскрипта, подвергающемся редактированию. Заметьте, что при спаривании оснований первичного транскрипта и руководящей РНК образуется несколько пар G=U (синие точки), которые часто встречаются в молекулах РНК.

Редактирование РНК путем замены нуклеотидов чаще всего состоит в ферментативном дезаминировании остатков аденозина или цитидина, в результате чего образуются инозин или уридин соответственно (рис. 27-11), хотя встречаются замены и других оснований. В ходе трансляции инозин воспринимается как G. Реакции дезаминирования аденозина катализируют ферменты семейства ADAR (от англ. *adenosine deaminases that act on RNA*). Дезаминирование цитидина происходит под действием семейства пептидов APOBEC (*apoB mRNA editing catalytic peptide*), к которому относятся также родственные дезаминазы AID (*activation-induced deaminase*). Эти две группы дезаминирующих ферментов содержат гомологичные каталитические домены, координирующие атом цинка.

Хорошо изученным примером такого рода реакции является дезаминирование гена аполипопротеина В, входящего в состав липопротеина низкой плотности у позвоночных. Одна форма

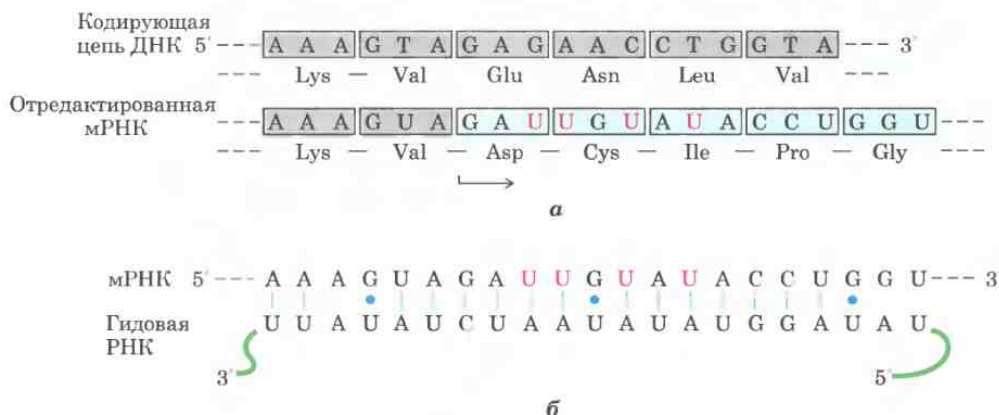


Рис. 27-10. Редактирование транскрипта гена субъединицы II цитохромоксидазы из митохондрий *Trypanosoma brucei*. а — встраивание четырех остатков урацила (розовые) приводит к изменению рамки считывания. б — направляющие (гидовые или адаптерные) РНК, комплементарные модифицированному продукту, служат матрицей в ходе редактирования. Обратите внимание на присутствие не уотсон-криковских пар G=U (синие).

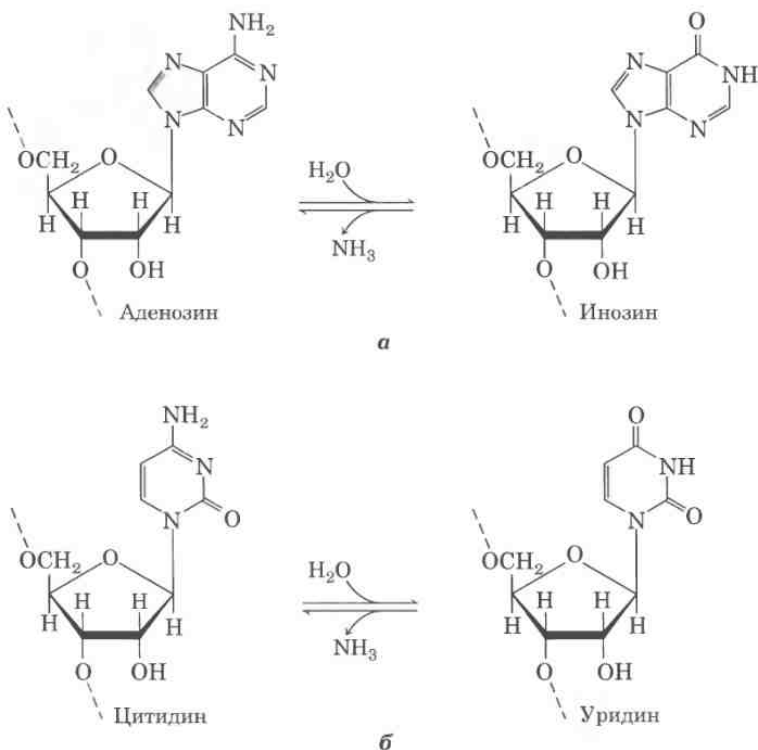


Рис. 27-11. Реакции дезаминирования в редактировании РНК. а — превращение аденозиннуклеотидов в инозиннуклеотиды катализируют ферменты ADAR. б — превращение цитидина в уридин катализируют ферменты семейства APOBEC.

аполипопротеина В, apoB-100 ($M_r = 513\ 000$), синтезируется в печени, вторая форма, apoB-48 ($M_r = 250\ 000$), — в кишечнике; мРНК обеих форм синтезируется на основе гена apoB-100. Цитидин-деаминаза APOBEC, обнаруженная только в кишечнике, связывается с мРНК на уровне кодона для аминокислотного остатка 2153 (CAA=Gln) и превращает С в U, в результате чего образуется стоп-кодон UAA. Итак, в кишечнике на основе этой модифицированной мРНК образуется белок apoB-48 — укороченная (N-концевая) форма белка apoB-100 (рис. 27-12). Эта реакция — пример

тканеспецифичного синтеза двух разных белков с одного гена.

Замена основания А на I при участии белков ADAR чаще всего встречается в транскриптах генов приматов, причем свыше 90% замен происходит в коротких диспергированных повторах (*short interspersed elements, SINE*), называемых Alu-элементами (см. рис. 24-8). В ДНК человека насчитывается свыше миллиона Alu-элементов длиной 300 п. н., что составляет около 10% всего генома. Они концентрируются вблизи генов белков, например, в интронах и нетранслируемых участках

Номер аминокислотного остатка		2146	2148	2150	2152	2154	2156	
Печень человека 5' (apoB-100)		CAACUG	CAG	ACA	UAU	AUG	AUA	CAACUUUGAUCAGUAU
		Gln — Leu — Gln — Thr — Tyr — Met — Ile — Gln — Phe — Asp — Gln — Tyr —						3'
Кишечник человека (apoB-48)		CAACUG	CAG	ACA	UAU	AUG	AUA	UAAUUUGAUCAGUAU
		Gln — Leu — Gln — Thr — Tyr — Met — Ile —	Стоп					

Рис. 27-12. Редактирование транскрипта гена apoB-100 — компонента ЛПНП. Дезаминирование, которое происходит только в кишечнике, приводит к превращению специфического цитидина в уридин, что влечет за собой замену кодона Gln на стоп-кодон и синтез укороченного белка.

на 3'- и 5'-концах транскриптов. В только что синтезированной (до процессинга) мРНК человека в среднем содержится от 10 до 20 Alu-элементов. Ферменты ADAR связываются только с двухцепочечной РНК и осуществляют замену А на I. Наличие множества Alu-элементов предоставляет большие возможности для внутримолекулярного спаривания оснований в транскриптах, обеспечивая необходимые для действия ADAR дуплексы. Иногда модификации изменяют кодирующие последовательности генов. Нарушения функции ADAR бывают связаны с различными неврологическими состояниями, включая латеральный амиотрофический склероз (болезнь Шарко), эпилепсию и клиническую депрессию.

Геномы позвоночных содержат множество SINE-элементов, причем у большинства организмов много разных типов SINE. Alu-элементы преобладают только у приматов. Детальный анализ генов и транскриптов показывает, что у людей замена А на I происходит в 30–40 раз чаще, чем у мышей, в значительной степени благодаря присутствию многочисленных Alu-элементов. Сравнительно частые замены А на I, а также распространенность альтернативного сплайсинга (см. рис. 26-22) — две особенности, отличающие геномы приматов от геномов других млекопитающих. Пока неясно, случайно ли произошли эти изменения или они играли важную роль в эволюции приматов и, в итоге, в появлении человека.

Краткое содержание раздела 27.1 ГЕНЕТИЧЕСКИЙ КОД

- Специфическая аминокислотная последовательность белка создается путем трансляции информации, закодированной в мРНК. Этот процесс происходит на рибосомах.
- Аминокислоты определяются кодонами мРНК, которые представляют собой нуклеотидные триплеты. Для трансляции нужны адаптерные молекулы тРНК, которые распознают кодоны и встраивают аминокислоты в соответствующем порядке в синтезируемый полипептид.
- Последовательности оснований в кодонах были установлены с помощью синтетиче-

ских мРНК с известным составом и последовательностью.

- Кодон AUG указывает начало трансляции, кодоны UAA, UAG и UGA являются сигналами окончания синтеза белка.
- Генетический код вырожден: почти все аминокислоты кодируются несколькими кодонами.
- Стандартный генетический код одинаков у всех организмов, за исключением некоторых минорных вариаций в митохондриях и в некоторых одноклеточных организмах.
- Третье положение в каждом кодоне гораздо менее специфичное, чем первое и второе; нуклеотиды в этом положении называются качающимися нуклеотидами.
- Сдвиг рамки считывания и редактирование РНК влияют на считывание генетического кода при трансляции.

27.2. Синтез белков

Ранее, описывая синтез ДНК и РНК (гл. 25 и 26), мы показали, что в синтезе полимерных биомолекул можно выделить стадии инициации, элонгации и терминации. Обычно эти основные процессы дополняются еще двумя стадиями: активация предшественников перед синтезом и постсинтетический процессинг собранных полимеров. Синтез белка следует тем же путем. Активация аминокислот перед их включением в полипептиды и посттрансляционный процессинг собранного полипептида играют очень важную роль, гарантируя как точность синтеза, так и нормальное функционирование готового продукта. Клеточные компоненты, участвующие в этих пяти стадиях синтеза белка у *E. coli* и других бактерий, перечислены в табл. 27-5; потребности эукариотических клеток примерно такие же, хотя иногда эукариотам требуются дополнительные компоненты. Сначала рассмотрим стадии синтеза белка в целом, что поможет нам в последующей дискуссии.

Таблица 27-5 Клеточные компоненты, участвующие в пяти основных стадиях синтеза белка у *E. coli*

Стадия	Основные компоненты
1. Активация аминокислот	20 аминокислот 20 аминоацил-тРНК-синтетаз 32 или более типов тРНК АТФ Mg^{2+}
2. Инициация	мРНК N-формилметионил-тРНК ^{fMet} Инициаторный кодон в мРНК (AUG) 30S-субъединица рибосомы 50S-субъединица рибосомы Факторы инициации (IF-1, IF-2, IF-3) GTP Mg^{2+}
3. Элонгация	Функциональная 70S-рибосома (инициаторный комплекс) Специфические аминоацил-тРНК Факторы элонгации (EF-Tu, F-Ts, EF-G) GTP Mg^{2+}
4. Терминация и высвобождение	Стоп-кодон в мРНК Факторы терминации (RF-1, RF-2, RF-3) EF-G IF-3
5. Укладка и посттрансляционный процессинг	Специфические ферменты, кофакторы и другие компоненты для удаления инициаторного остатка и сигнальных последовательностей, дополнительный протеолитический процессинг, модификация концевых остатков и присоединение ацетильной, фосфорильной, метильной, карбоксильной, углеводной или простетической группы.

Синтез белка происходит в пять стадий

Стадия 1: активация аминокислот. Для синтеза полипептида со специфической последовательностью необходимо соблюдение двух условий: (1) карбоксильная группа каждой аминокислоты должна быть активирована для облегчения формирования пептидной связи; (2) необходимо однозначное соответствие между каждой новой аминокислотой и кодирующей ее мРНК. Оба эти требования удовлетворяются путем присоединения аминокислоты к тРНК на первой стадии синтеза белка. Принципиально важно соединить правильную аминокислоту с правильной тРНК. Эта реакция происходит в цитоплазме, а не на рибосоме. Каждая из 20 аминокислот ковалентно связывается со специфиче-

ской тРНК с затратой энергии АТФ с помощью активирующих Mg^{2+} -зависимых ферментов, называемых аминоацил-тРНК-синтетазами. Связанную с соответствующей аминокислотой (аминоацетилированную) тРНК называют «нагруженной».

Стадия 2: инициация. Кодированная полипептид мРНК связывается с меньшей из двух субъединиц рибосомы и с инициаторной аминоацил-тРНК. Затем к ним присоединяется большая субъединица рибосомы, и формируется инициаторный комплекс. Инициаторная аминоацил-тРНК спаривается с кодоном AUG в мРНК, который обозначает начало полипептида. Этот процесс требует затраты GTP и запускается белками цитоплазмы, называемыми факторами инициации.

Стадия 3: элонгация. Полипептид удлиняется путем последовательного ковалентного связывания аминокислот, которые доставляются к рибосоме и точно размещаются специфическими молекулами тРНК путем спаривания с основаниями соответствующих кодонов в мРНК. Элонгация требует участия цитоплазматических белков, называемых факторами элонгации. Связыванию каждой поступающей молекулы аминоацил-тРНК и продвижению рибосом вдоль мРНК способствует гидролиз GTP.

Стадия 4: терминация и высвобождение. Сигналом окончания синтеза полипептидной цепи является стоп-кодон в мРНК. Новый полипептид высвобождается из комплекса с рибосомой с помощью факторов высвобождения, а рибосома готовится для синтеза следующего белка.

Стадия 5: укладка и посттрансляционный процессинг. Для перехода в активную форму новый полипептид должен принять свою специфическую трехмерную конформацию. До или после соответствующей упаковки полипептид может подвергаться ферментативным превращениям, таким как удаление одной или нескольких аминокислот (обычно с N-конца), присоединение ацетильной, фосфорильной, метильной, карбоксильной или других групп к определенным аминокислотным остаткам, протеолитическое расщепление и/или присоединение олигосахаридов или простетических групп.

Прежде чем перейти к детальному обсуждению этих пяти стадий, следует обратить внимание на два ключевых элемента в биосинтезе белка: рибосомы и молекулы тРНК.

Рибосома — сложная надмолекулярная машина

Каждая клетка *E. coli* имеет 15 000 или более рибосом, на них приходится до четверти сухой массы клетки. Бактериальные рибосомы содержат около 65% рРНК и 35% белка: их диаметр примерно 18 нм, они состоят из двух неравных субъединиц с коэффициентами седиментации 30S и 50S (общий коэффициент седиментации 70S). Обе субъединицы содержат десятки рибосомных белков и, как минимум, одну крупную молекулу рРНК (табл. 27-6).

Рибосомы стали активно изучать после установления Замечником их роли в синтезе белка и после расшифровки генетического кода. В конце 1960-х гг. Масаясу Номура с коллегами показали, что обе субъединицы рибосомы можно разъединить на составляющие их РНК и белок и вновь собрать *in vitro*. При определенных условиях эксперимента происходит самопроизвольная сборка РНК и белка с образованием 30S- и 50S-субъединиц, практически идентичных по



Масаясу Номура,
1927–2011

Таблица 27-6 РНК и белковые компоненты рибосомы *E. coli*

Субъединица	Число различных белков	Общее число белков	Обозначение белков	Число и тип молекул рРНК
30S	21	21	S1-S21	1 (16S рРНК)
50S	33	36	L1-L36*	2 (5S и 23S рРНК)

* Обозначения белков от L1 до L36 не соответствуют 36 разным белкам. Белок, первоначально обозначенный L7, на самом деле является модифицированной формой L12, а L8 — это комплекс трех других белков. Установлено также, что L26 и S20 — один и тот же белок, и он не входит в состав 50S-субъединицы. В большой субъединице 33 разных белка. Белок L7/L12 содержится в четырех копиях, и вместе с тремя дополнительными копиями общее количество белков равно 36.

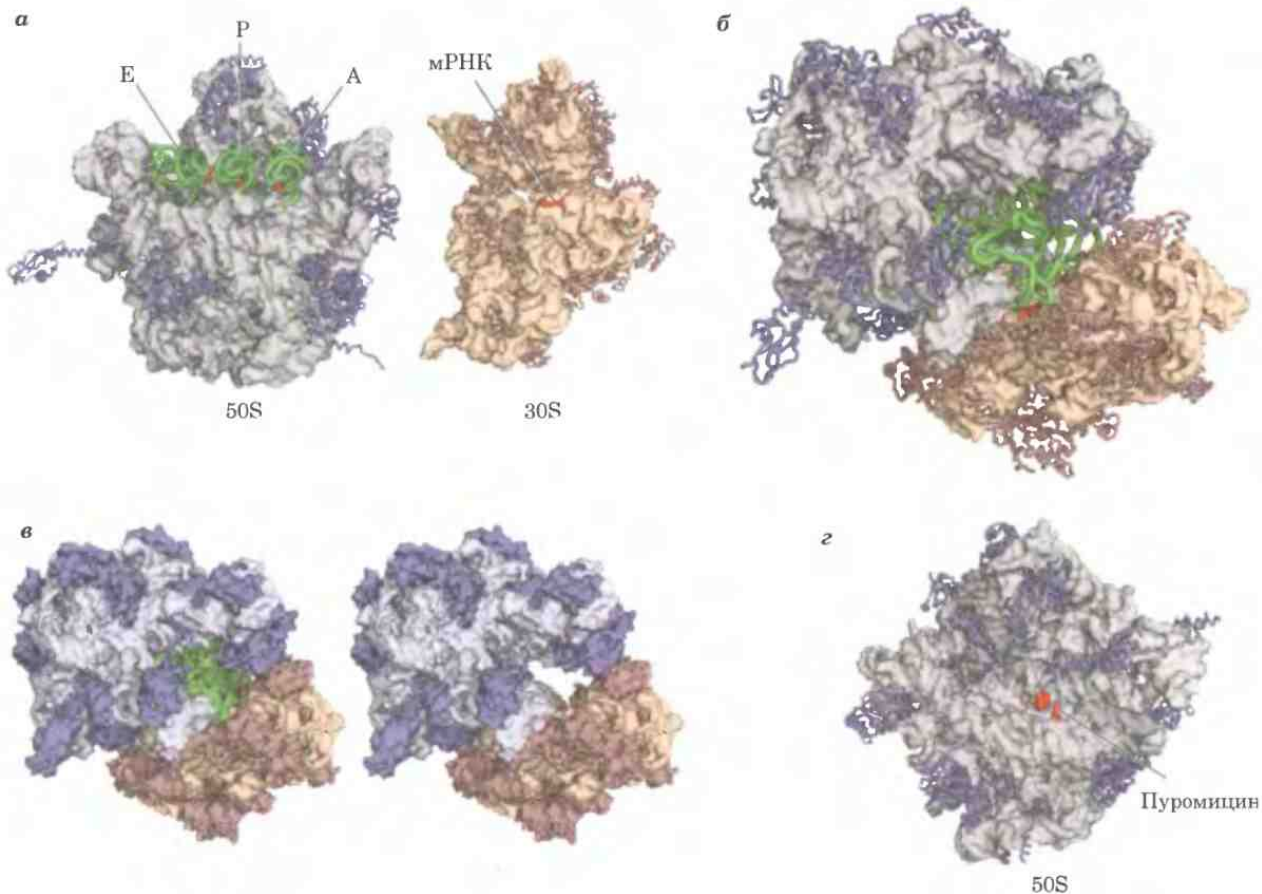


Рис. 27-13. Бактериальная рибосома. Мы сильно продвинулись в понимании строения рибосом благодаря множеству изображений высокого разрешения бактериальной рибосомы и ее субъединиц, полученных несколькими группами исследователей. Некоторые из этих структур приведены здесь. *а* — субъединицы 50S и 30S бактериальной рибосомы разъединены, чтобы показать поверхности, которые взаимодействуют в активной рибосоме. *Слева* показано строение 50S-субъединицы (по PDB ID 20W8, 1VSA и 1GIX) с молекулами тРНК (зеленые), связанными с сайтами Е, Р и А (описаны далее в тексте); антикодоны тРНК выделены красным цветом. Белки изображены в виде синих спиралей; рРНК изображена серым цветом, видна структура ее поверхности. *Справа* представлено строение 30S-субъединицы (по PDB ID 20W8). Белки изображены в виде коричневых спиралей; рРНК бежевая, виден рельеф ее поверхности. Часть мРНК, взаимодействующая с антикодонами тРНК, окрашена в красный цвет. Остальная мРНК (не показано) протягивается через бороздки или каналы на поверхности 30S-субъединицы. *б* — активная бактериальная рибосома; вид снизу на бороздку, разделяющую субъединицы (по PDB ID 20W8, 1VSA и 1GIX). Все элементы окрашены, как и на рис. *а*. *в* — рибосома показана в том же ракурсе, как на рис. *б*, но все составляющие показаны в объеме. *Справа* (рис. *в*) отсутствуют молекулы тРНК, так что видна полость, где и происходит синтез белка. *з* — 50S-субъединица бактериальной рибосомы (PDB ID 1Q7Y). Она показана со стороны, которая присоединяется к 30S-субъединице. Активный центр, в котором происходит образование пептидной связи (в результате активности пептидилтрансферазы), располагается глубоко в бороздке и далеко от всех белков; с активным центром связан ингибитор пурумицин (красный).

Дополнение 27-2 Из мира РНК в мир белка

Известные в настоящее время рибозимы обычно запускают реакцию одного из двух типов: гидролитическое расщепление фосфодиэфирных связей или трансфосфорилирование (гл. 26). И в том и другом случаях субстраты этих реакций тоже молекулы РНК. Рибосомные РНК значительно расширяют диапазон каталитических возможностей рибозимов. По мере продвижения лабораторных исследований каталитических функций РНК (см. доп. 26-3) идея мира РНК как предшественника современных форм жизни становится все более популярной.

Жизнеспособный мир РНК должен иметь возможность независимо реплицироваться, обладать примитивным метаболизмом для синтеза необходимых рибонуклеотидных предшественников и иметь клеточные границы, чтобы накапливать субстраты и изолировать их от окружающей среды. Для осуществления реакций между разнообразными метаболитами и макромолекулами могли возникнуть более крупные и более сложные РНК-катализаторы. Большое количество отрицательно заряженных фосфорильных групп в каркасе молекулы РНК понижает ее стабильность и тем самым ограничивает размер молекул РНК. В мире РНК для поддержания стабильности крупных молекул в их состав могли включаться двухвалентные катионы или другие положительно заряженные группы.

Способствовать стабилизации крупных молекул РНК могут некоторые пептиды. Например, многие рибосомные белки в клетках современных эукариот — это длинные молекулы, не формирующие вторичной структуры; вытягиваясь вдоль молекул рРНК, они вызывают их стабилизацию (рис. 1). Весьма вероятно, что появление катализируемого рибозимами синтеза пептидов исходно имело своей целью стабилизацию структуры больших молекул РНК. Возможно, синтез пептидов помогал стабилизировать крупные рибозимы, но это усовершенствование стало началом конца мира РНК. Как только стал возможен синтез пептидов, более высокий каталитический потенциал белков обеспечил необратимый переход к метаболизму, основанному на функциях белков.

В конце концов в ведение белков перешло большинство каталитических функций, но не все. У всех современных организмов важная задача синтеза белков решена с помощью рибозимов. По-видимому, в активном центре рибозима существует единствен-

ная оптимальная комбинация нуклеотидов (или этих комбинаций совсем не много), которая может участвовать в катализе синтеза пептидов. У всех видов организмов остатки рРНК больших субъединиц, которые, как предполагается, вовлечены в пептидилтрансферазную активность рибосом, высококонсервативны. Используя метод «эволюции *in vitro*» (SELEX; см. доп. 26-3), исследователи выделили искусственные рибозимы для осуществления синтеза пептидов. Интересно, что в большинстве этих биополимеров имеется высококонсервативная последовательность из восьми рубонуклеотидов (5')AUAACAGG(3'), которая также обнаружена в пептидилтрансферазном центре рибосом всех клеток. По-видимому, есть только одно оптимальное решение общей задачи химического синтеза белков со специфической последовательностью с помощью рибозимов. Эволюция однажды нашла это решение, и ни в каких формах жизни оно не было улучшено.

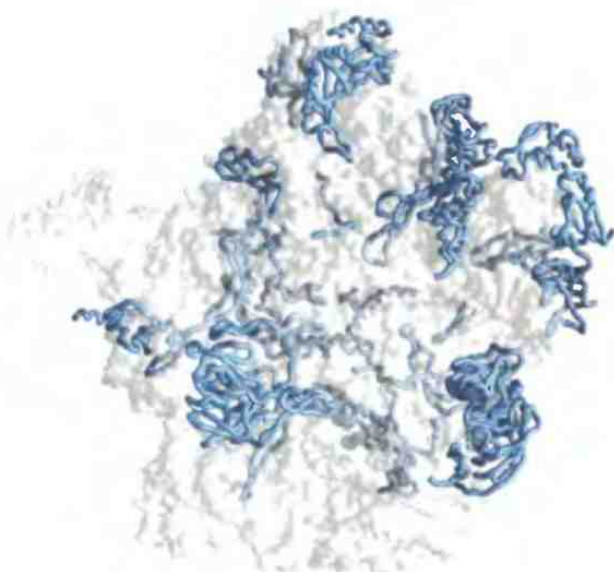


Рис. 1. 50S-субъединица бактериальной рибосомы (PDB ID 1NKW). Синие нити — молекулы белка; структурные элементы рРНК — прозрачные. Неструктурированные протяженные участки многих рибосомных белков встраиваются в структуры рРНК, помогая их стабилизировать.

структуре и активности нативным субъединицам. Это открытие открыло дорогу исследованиям в области функции и структуры рибосомных РНК и белков, которые продолжаются уже несколько десятилетий. Одновременно были достигнуты успехи в развитии структурных методов исследования, благодаря чему строение рибосом было изучено в деталях.

В начале нового тысячелетия структура субъединиц бактериальных рибосом была исследована с очень высоким разрешением, и это принесло много «сюрпризов» (рис. 27-13). Во-первых, изменилось традиционное мнение о ведущей роли белковых компонентов рибосом. Субъединицы рибосом представлены очень большими (гигантскими) молекулами РНК. Сердцевину 50S-субъединицы формируют 5S- и 23S-рРНК. В этом комплексе белки как бы вторичны — они покрывают его поверхность. Во-вторых, и это самое важное, на расстоянии 18 Å от активного центра отсутствует белок, который мог бы сформировать пептидную связь. Структурные исследования с высоким разрешением подтвердили то, о чем высказывались предположения более 10 лет назад: рибосома это и есть рибозим. Кроме того, понимание механизма синтеза белка (описанного ниже) и определение детального строения рибосомы и ее субъединиц породили новые взгляды на эволюцию жизни (доп. 27-2).

Бактериальная рибосома имеет сложное строение; ее общая молекулярная масса ~2,7 млн Д. Две рибосомные субъединицы неправильной формы объединены таким образом, что между ними образуется щель, через которую при трансляции проходит молекула мРНК (рис. 27-13, б). В бактериальных рибосомах 57 белков, которые очень сильно различаются по размеру и структуре: молекулярная масса этих белков от 6000 до 75 000. Большинство белков имеет глобулярные домены на поверхности рибосомы. У некоторых белков есть также протяженные неструктурированные хвосты, которые проникают в состоящую из рРНК сердцевину рибосомы, стабилизируя ее структуру. Назначение некоторых из этих белков до настоящего времени неясно, но многие, судя по всему, выполняют структурную функцию.

У многих организмов последовательности молекул рРНК установлены. Каждая из трех

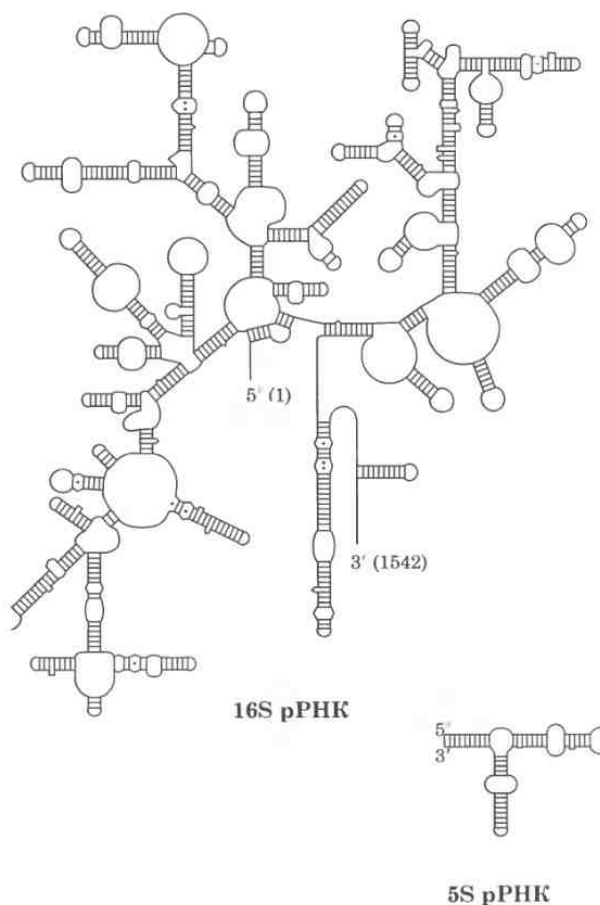


Рис. 27-14. Бактериальные рРНК. Вторичная структура 16S- и 5S-рРНК *E. coli*. Отмечены (и в 16S рРНК отцифрованы — цифры в скобках) первый (на 5'-конце) и последний (на 3'-конце) остатки рибонуклеотидов.

одноцепочечных рРНК *E. coli* имеет специфическую трехмерную конформацию с протяженными участками спаренных оснований внутри цепи. Предсказанная вторичная структура молекул рРНК (рис. 27-14) в значительной степени была подтверждена на моделях, но она не может объяснить сложные взаимодействия в третичной структуре.

Рибосомы эукариотических клеток (которые отличаются от рибосом митохондрий и хлоропластов) крупнее и сложнее бактериальных рибосом (рис. 27-15), их диаметр ~23 нм, а коэффициент седиментации ~80S. Они также состоят из двух субъединиц, которые отличаются по размеру у разных видов, но в среднем 60S и 40S.

В сумме рибосомы эукариот содержат более 80 различных белков. Рибосомы митохондрий и хлоропластов меньше и проще бактериальных рибосом. Однако у всех организмов и во всех органеллах структура и функции рибосом поразительно похожи.

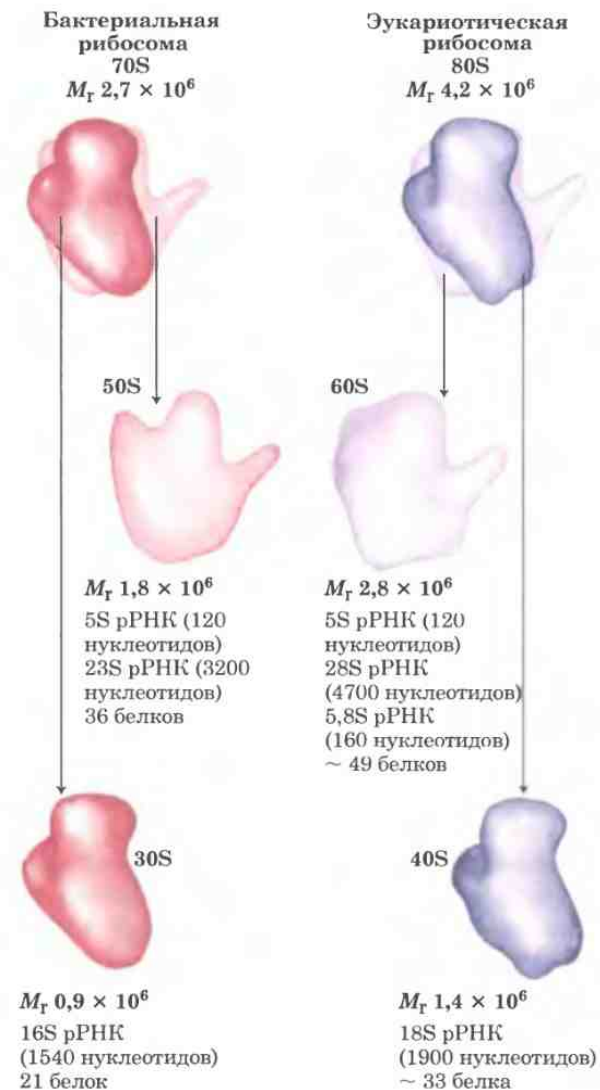


Рис. 27-15. Масса и состав рибосом бактерий и эукариот. Субъединицы рибосом характеризуются коэффициентами седиментации в единицах Сведберга S, которые отражают скорость их осаждения при центрифугировании. Значения S для рибосом не всегда аддитивны, поскольку скорость осаждения определяется не только их массой, но и формой.

Транспортные РНК имеют специфическую структуру

Для того чтобы понять, каким образом молекулы тРНК могут переводить информацию с языка нуклеиновых кислот на язык белков, нужно подробнее проанализировать их структуру. Молекулы транспортной РНК относительно малы и состоят из одной цепи РНК со строго определенной трехмерной структурой (см. рис. 8-25, а). тРНК бактерий и в цитозоле эукариот содержат от 73 до 93 нуклеотидных остатков; общая молекулярная масса от 24 000 до 31 000. тРНК митохондрий и хлоропластов меньше по размеру. В клетке для каждой аминокислоты присутствует хотя бы один тип тРНК. Для распознавания кодонов всех аминокислот требуются различные РНК не менее 32 типов (некоторые распознают более одного кодона), но нередко в клетке задействовано более 32 типов тРНК.

Дрожжевая тРНК для аланина (тРНК^{Ala}; первая нуклеиновая кислота, последовательность которой была полностью секвенирована; рис. 27-16) состоит из 76 нуклеотидных остатков, из которых 10 имеют модифицированные основания. Сопоставление тРНК разных видов выявило много общих структурных особенностей (рис. 27-17). Не менее восьми нуклеотидных остатков содержат модифицированные основания и сахара, многие нуклеотиды представлены метилированными производными обычных нуклеотидов. Большинство молекул тРНК несет на 5'-конце остаток гуанилата (pG), а на 3'-конце все РНК имеют последовательность ССА(3'). На плоскости структура всех тРНК с водородными связями изображается в виде клеверного листа с четырьмя плечами, более длинные молекулы тРНК имеют короткое дополнительное пятое плечо (рис. 27-17). В трехмерном изображении тРНК имеет форму скрученной буквы L (рис. 27-18).

Для выполнения адаптерной функции принципиальное значение имеют два плеча тРНК. **Аминокислотное плечо** может нести специфическую аминокислоту, карбоксильная группа которой соединена эфирной связью с 2'- или 3'-гидроксильной группой остатка А на 3'-конце тРНК. **Антикодонное плечо** содержит антикодон. Другие крупные плечи — это **плечо D**, которое содержит необычный нуклеотид дигидроуридин D, и **плечо**

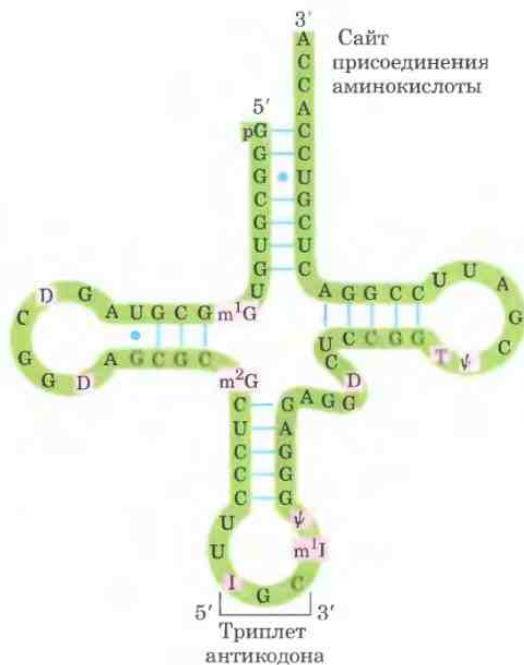


Рис. 27-16. Нуклеотидная последовательность дрожжевой тРНК^{Ala}. Эта структура была определена в 1965 г. Робертом Холли с коллегами; молекула изображена в конформации клеверного листа, при которой достигается максимальное спаривание оснований. В модифицированных нуклеотидах (на розовом фоне) использованы следующие обозначения: ψ — псевдоуридин; I — инозин; T — риботимидин; D — 5,6-дигидроуридин; m¹I — 1-метилюридин; m¹G — 1-метилгуанозин; m²G — N²-диметилгуанозин (см. рис. 26-23). Голубые линии между параллельными фрагментами обозначают уотсон-криковские пары оснований. В молекулах РНК гуанозин часто спаривается с уридином, хотя пара G=U не так стабильна, как пара G=C (гл. 8 в т. 1). Антикодон может распознать три кодона аланина (GCA, GCU и GCC). Другие структурные элементы тРНК показаны на рис. 27-17 и 27-18.



Роберт Холли,
1922–1993

Т ψ С, содержащие риботимидин Т, которого в молекулах РНК, как правило, нет, и псевдоуридин ψ с необычной углерод-углеродной связью между основанием и рибозой (см. рис. 26-23). Плечи D и Т ψ С обеспечивают важные взаимодействия при укладке молекул тРНК, а плечо Т ψ С взаимодействует с более тяжелой субъединицей рРНК.

Ознакомившись со структурой рибосом и тРНК, начнем подробное обсуждение пяти стадий синтеза белка.



Рис. 27-17. Схема вторичной структуры тРНК в форме клеверного листа. Точками внутри последовательности обозначены нуклеотидные остатки; голубые линии обозначают пары оснований. Нуклеотиды на розовом фоне характерны и/или инвариантны во всех тРНК. Транспортные РНК имеют длину от 73 до 93 нуклеотидов. Дополнительные нуклеотиды образуют D-плечо. В конце антикодонового плеча формируется петля, в которой всегда содержится семь неспаренных нуклеотидов. Плечо D в разных тРНК содержит два или три остатка D (5,6-дигидроуридин). В некоторых тРНК только три пары оснований плеча D связаны водородными связями. Основные символы расшифрованы на рис. 27-16; Pu — пуриновый нуклеотид; Py — пиримидиновый нуклеотид; G* — гуанилат или 2'-O-метилгуанилат.

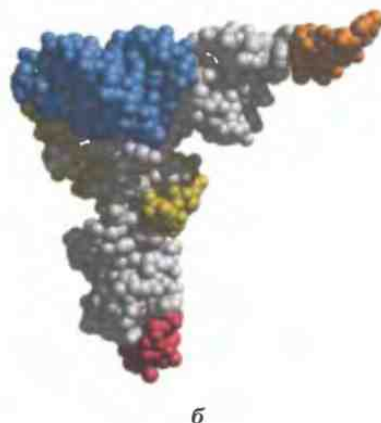
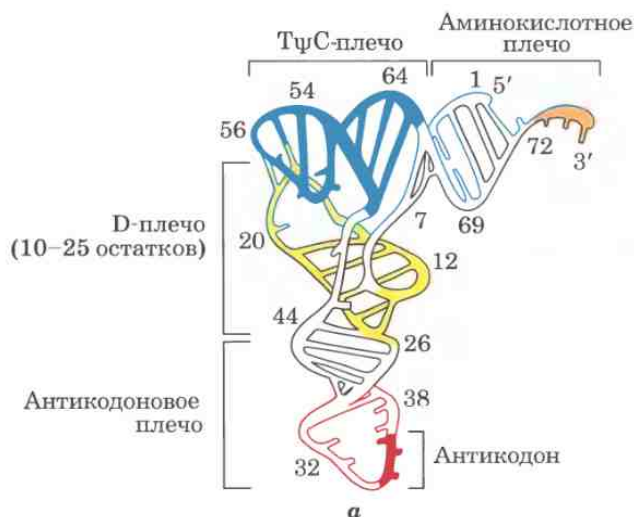


Рис. 27-18. Трехмерная структура дрожжевой тРНК^{Phe}, установленная методом рентгено-структурного анализа. Форма молекулы напоминает перевернутую и скрученную букву L. *а* — схема молекулы; плечи (рис. 27-17) выделены разными цветами. *б* — объемная модель с теми же цветовыми обозначениями (PDB ID 4TRA). Последовательность ЦСА на 3'-конце (оранжевая) — место присоединения аминокислоты.

Стадия 1: аминоацил-тРНК-синтазы присоединяют определенные аминокислоты к соответствующим молекулам тРНК

На первой стадии синтеза белка, происходящей в цитоплазме, аминоацил-тРНК-синтазы осуществляют реакцию этерификации 20 аминокислот и соответствующими им тРНК. Фермент проявляет специфичность к одной или нескольким аминокислотам и одной или нескольким тРНК. У большинства организмов одна аминоацил-тРНК-синтаза работает с каждой аминокислотой. Если аминокислоте соответствуют две или несколько тРНК, обычно их аминоацилирование осуществляет один и тот же фермент.

Определена структура всех аминоацил-тРНК-синтаз *E. coli*. На основании существенных различий в их первичной и третичной структурах и в механизме действия предложено говорить о двух синтазах (табл. 27-7; **рис. 27-19**); эти два фермента есть у всех организмов. Пока нет доказательств общего эволюционного предшественника, и биологические, химические и эволюционные причины существования этих двух разных ферментов-катализаторов практически идентичных процессов остаются непонятны.

Аминоацил-тРНК-синтаза катализирует следующую реакцию:

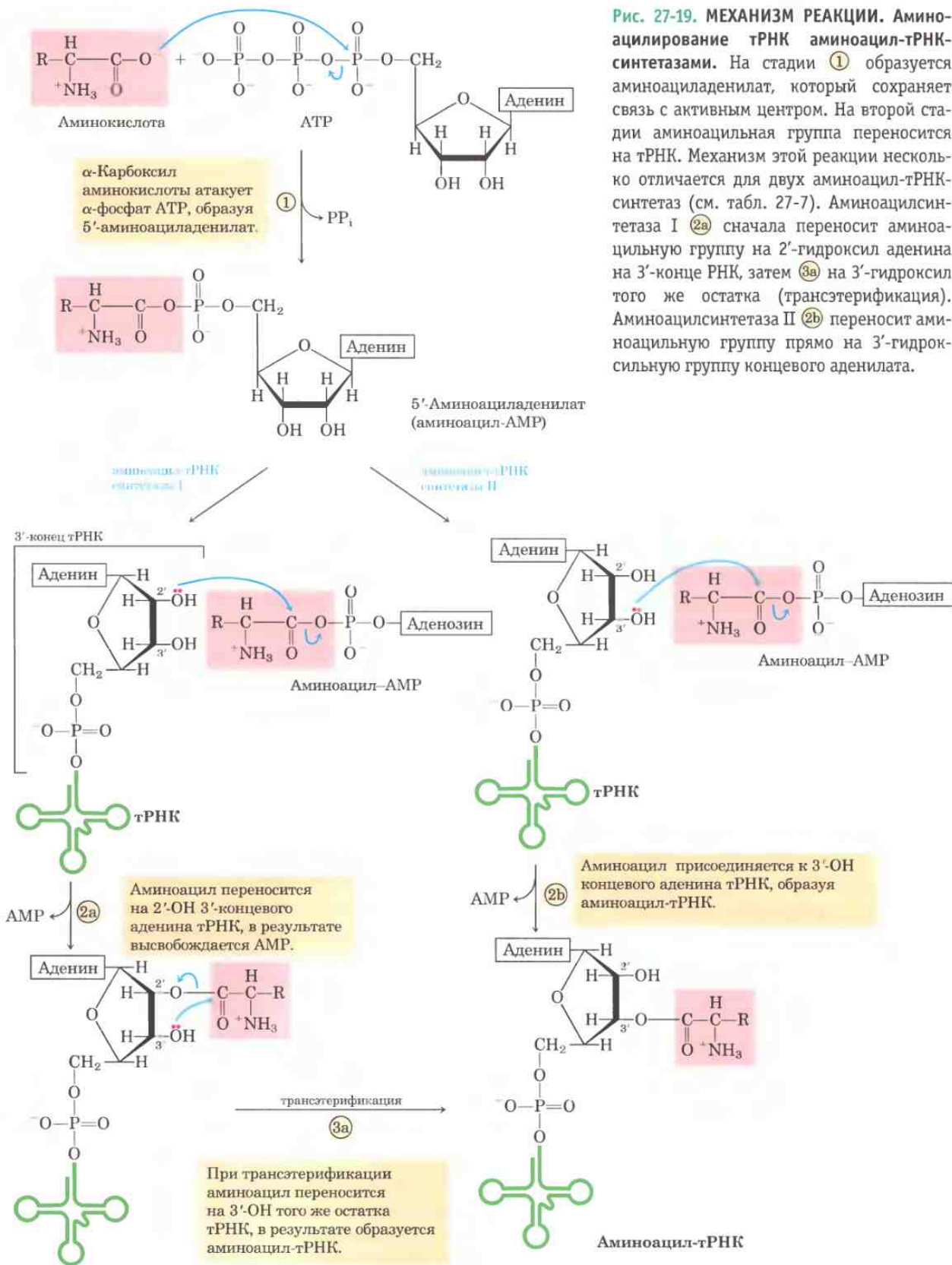


Реакция происходит в активном центре фермента в две стадии. На стадии ① (рис. 27-19) образуется связанный с ферментом промежуточный продукт аминоацिलाденилат (аминоацил-АМР). На второй стадии аминоацильная группа переносится со связанного с ферментом аминоацил-АМР на

Таблица 27-7 Две аминоацил-тРНК-синтазы

Класс I		Класс II	
Arg	Leu	Ala	Lys
Cys	Met	Asn	Phe
Gln	Trp	Asp	Pro
Glu	Tyr	Gly	Ser
Ile	Val	His	Thr

Примечание. Обозначения: Arg — аргинил-тРНК-синтаза, и т. д. Эти два фермента были обнаружены во всех изученных организмах; они имеют разные структуры и разные механизмы действия (см. рис. 27-19).



соответствующую специфическую тРНК. Протекание второй стадии зависит от синтетазы I или II (реакции 2a и 2b на рис. 27-19). Гидролиз образовавшейся эфирной связи между аминокислотой и тРНК (рис. 27-20) характеризуется большим отрицательным значением изменения стандартной свободной энергии ($\Delta G^\circ = -29$ кДж/моль). Получившийся в результате реакции активации пирофосфат гидролизуется до фосфата под действием неорганической пирофосфатазы. Таким образом, на активацию каждой аминокислоты расходуются *две* высокоэнергетические фосфатные связи, и суммарная реакция активации аминокислоты необратима:



Корректирующая функция аминоацил-тРНК-синтетаз. Аминоацилирование тРНК приводит к двум результатам: (1) происходит активация аминокислоты для формирования пептидной связи и (2) аминокислота присоединяется к адаптерной тРНК, что обеспечивает правильное положение аминокислоты в растущем полипептиде. На рибо-

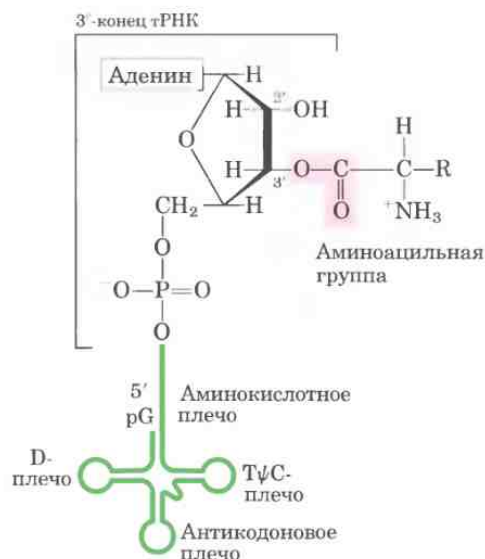
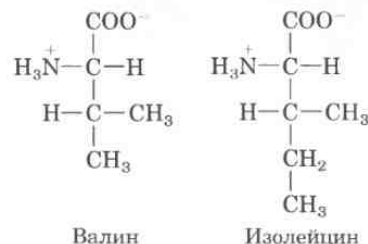


Рис. 27-20. Общая структура молекул аминоацил-тРНК. Аминоацильная группа присоединяется по 3'-положению концевой остатка А. Сложноэфирная связь, которая активирует аминокислоту и связывает ее с тРНК, отмечена розовым цветом.

сое присоединяемая аминокислота не идентифицируется, поэтому для синтеза определенной последовательности важно контролировать связывание тРНК с правильной аминокислотой.

В гл. 6 (т. 1) мы говорили о том, что специфичность фермента определяется энергией связывания фермента с субстратом. Способность различать две похожие аминокислоты была подробно изучена на примере Ile-тРНК-синтетазы, которая узнает валин и изолейцин, различие между которыми — всего одна метиленовая группа ($-\text{CH}_2-$).



По-видимому, метиленовая группа (в Ile) способна усилить связывание субстрата (с образованием Ile-АМР), поэтому изолейцин связывается в активном центре фермента, давая Ile-тРНК-синтетазу в 200 раз чаще, чем валин. Однако в действительности валин по ошибке встраивается на место изолейцина не чаще одного раза из 3000. Что повышает точность работы фермента более чем в 10 раз? Дело в том, что подобно некоторым другим аминоацил-тРНК-синтетазам Ile-тРНК-синтетаза проявляет корректирующую активность.

Вспомним общий принцип, который мы обсуждали при оценке корректирующей активности ДНК-полимераз (табл. 25-1): если взаимодействия фермента с двумя разными субстратами не приводят к тому, что фермент достоверно дифференцирует эти субстраты, необходимой специфичности можно достичь путем *двухступенчатого взаимодействия*. Усиление эффекта от использования двух последовательных фильтров оказывается мультипликативным. В случае Ile-тРНК-синтетазы первым таким фильтром служит исходное связывание аминокислоты с ферментом и ее активация до аминоацил-АМР. Вторым фильтром — это связывание любых *неправильных* активированных аминокислот с другим активным центром фермента; субстрат, связывающийся со вторым активным центром, подвергается гидролизу. У валина размер R-группы немного меньше, чем у изолейцина, поэтому Val-АМР помещается в гидролитическом (корректирующем) центре

Пе-тРНК-сингетазы, а Пе-АМР нет. Благодаря этому Val-АМР в корректирующем центре расщепляется на валин и АМР, а связанная с ферментом тРНК не подвергается аминокислотированию неправильной аминокислотой.

Кроме корректирующей активности большинство аминокислот-тРНК-сингетаз после образования аминокислот-АМР могут расщеплять сложноэфирную связь между аминокислотой и тРНК в аминокислот-тРНК. Такой гидролиз особенно быстро происходит в случае неправильно нагруженных молекул тРНК, что обеспечивает третий фильтр для повышения точности всего процесса. Немногочисленные аминокислот-тРНК-сингетазы (например, Cys-тРНК-сингетаз), которые активируют аминокислоты, не имеющие близких структурных аналогов, практически не имеют корректирующей активности; в таких случаях активный центр аминокислотирования достаточно точно различает истинный субстрат и любую неправильную аминокислоту.

Общее число ошибок при синтезе белка (~1 ошибка на 10^4 встроенных аминокислот) значительно больше, чем при репликации ДНК. Это объясняется тем, что повреждения исчезают при расщеплении белка и не передаются следующим поколениям. Точность синтеза белка достаточна для того, чтобы обеспечить правильность сборки большинства белков, и потерь большого количества энергии, как это требуется при синтезе белка, обычно не происходит. Одна дефектная копия во множестве нормальных копий белка обычно не играет никакой роли.

Взаимодействие аминокислот-тРНК-сингетазы и тРНК: «второй генетический код». Каждая аминокислот-тРНК-сингетаз специфична не только к определенной аминокислоте, но также к определенному тРНК. Найти правильную тРНК среди десятков других так же важно для точности синтеза белка, как и найти свою аминокислоту. Взаимодействия между аминокислот-тРНК-сингетазой и тРНК называют «вторым генетическим кодом», подчеркивая их важную роль в обеспечении точности синтеза белка. Правила этого «второго» кода сложнее правил «первого» кода.

На рис. 27-21 собрана информация о нуклеотидах, важных для распознавания некоторыми аминокислот-тРНК-сингетазой. Некоторые нуклеотиды консервативны во всех тРНК и, сле-

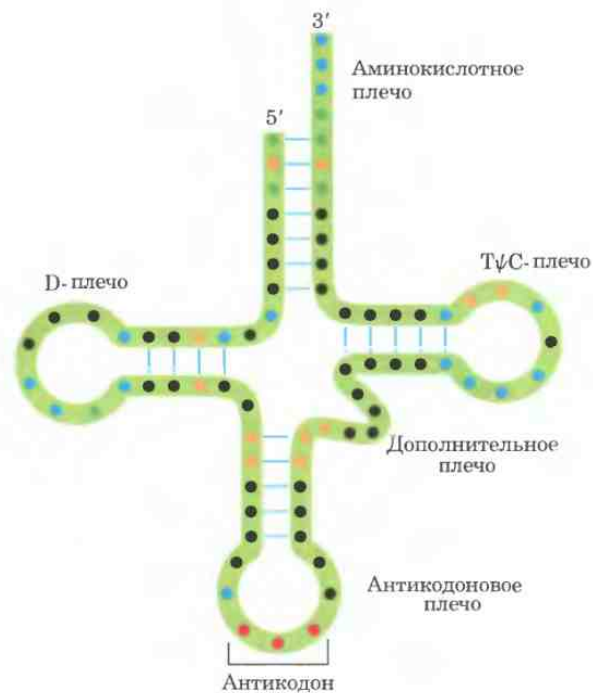


Рис. 27-21. Положения нуклеотидов в молекулах тРНК, которые распознаются аминокислот-тРНК-сингетазой. Некоторые положения (голубые точки) консервативны во всех молекулах тРНК и поэтому не являются их отличительными признаками. Другие положения распознаются одной (желтые) или несколькими (зеленые) аминокислот-тРНК-сингетазой. Для некоторых сингетаз при распознавании важна не последовательность тРНК, а другие особенности строения.

довательно, не участвуют в выборе правильных последовательностей. Проанализировав вариации нуклеотидов в тРНК, которые определяют субстратную специфичность аминокислот-тРНК-сингетаз, исследователи выявили те позиции, которые отвечают за дискриминацию субстратов. Предполагается, что эти позиции сосредоточены в аминокислотном и антикодонном плечах, включая последовательность самого антикодона, но важные позиции есть и в других частях молекулы тРНК. Расшифровка кристаллических структур аминокислот-тРНК-сингетаз — неоценимый вклад в наше понимание взаимодействий при образовании комплекса тРНК и АТР (рис. 27-22).

В распознавании тРНК ее аминокислот-тРНК-сингетазой задействовано 10 или более специфических нуклеотидов. Но в некоторых случаях механизм распознавания очень простой. У всех

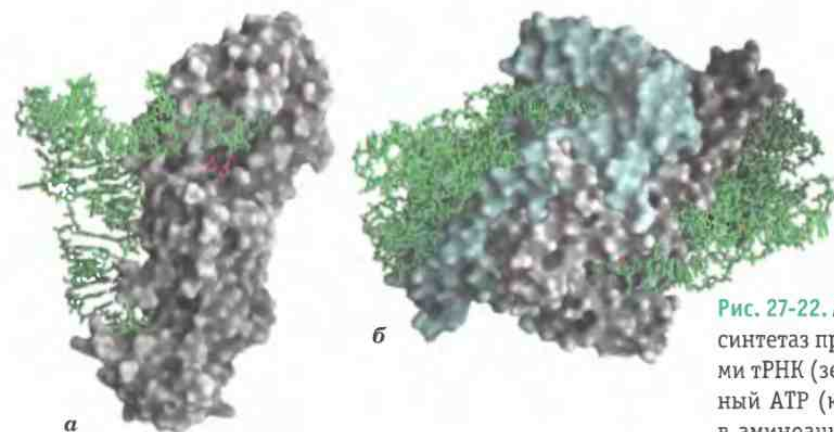


Рис. 27-22. Аминоацил-тРНК-синтетазы. Для обеих синтетаз приведены комплексы с соответствующими тРНК (зеленые стержневые структуры). Связанный АТФ (красный) находится в активном центре в аминокислотном плече. *а* — Gln-тРНК-синтетаза из *E. coli*, типичный пример мономерной синтетазы I (PDB ID 1QRT). *б* — Asp-тРНК-синтетаза из дрожжей, типичный пример димерной синтетазы II (PDB ID 1ASZ).

организмов от бактерий до человека в распознавании тРНК Ala-тРНК-синтетазами главную роль играет одна-единственная пара оснований G=U в аминокислотном плече тРНК^{Ala} (рис. 27-23, *а*). Короткая РНК всего из 7 п. н., образующих простую миниспираль в виде шпильки, успешно аминоацилируется Ala-тРНК-синтетазой при наличии в РНК ключевой пары G=U (рис. 27-23, *б*). Такая простая система распознавания аланина, возможно, сохранилась с того времени, когда олигонуклеотиды-предшественники РНК, подвергались аминоацилированию для синтеза белка в примитивной системе.

Взаимодействие аминоацил-тРНК-синтетаз с соответствующими тРНК играет важную роль в правильном считывании генетического кода. Любое расширение кода с включением новой аминокислоты неизбежно потребовало бы образования новой пары аминоацил-тРНК-синтетаза/тРНК. В природе расширение генетического кода наблюдается редко, чаще этот случай может быть реализован в лабораторных условиях (доп. 27-3).

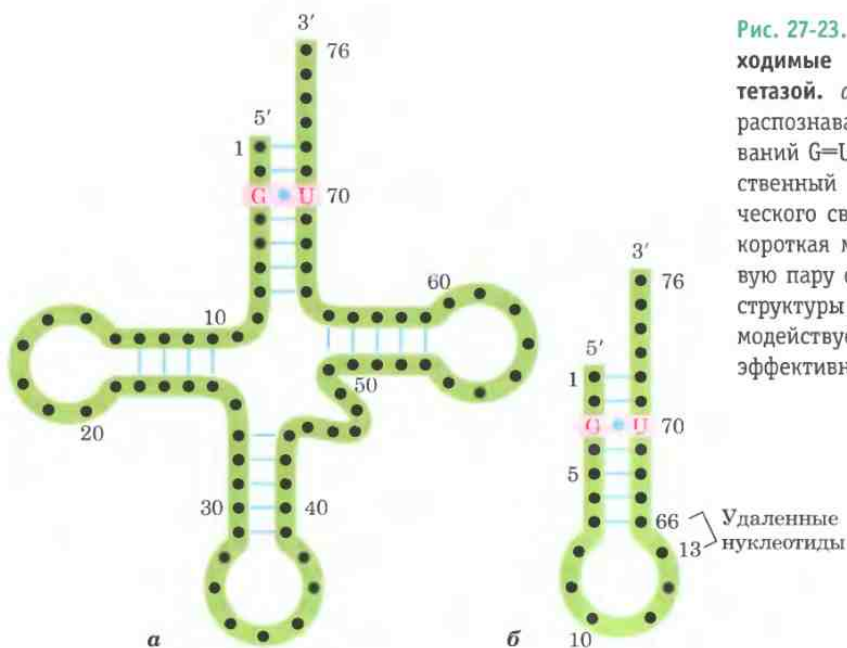


Рис. 27-23. Структурные элементы тРНК^{Ala}, необходимые для распознавания Ala-тРНК-синтетазой. *а* — структурные элементы тРНК^{Ala} распознаваемые Ala-тРНК-синтетазой. Пара оснований G=U (выделена розовым цветом) — единственный элемент, необходимый для специфического связывания и аминоацилирования. *б* — короткая миниспираль РНК, содержащая ключевую пару оснований G=U, но без большей части структуры тРНК. Эта спираль специфически взаимодействует с Ala-тРНК-синтетазой почти так же эффективно, как целая молекула тРНК^{Ala}.

Дополнение 27-3 Естественное и искусственное расширение генетического кода (продолжение)

гене. Как и в случае селеноцистеина, возможно, существуют определенные сигналы, направляющие данную тРНК к правильному кодону UAG.

Могут ли ученые воссоздать этот эволюционный путь искусственным путем? Модификации белков с различными функциональными группами могут значительно расширить наши представления об их активности и структуре. Однако модификация белков часто представляет собой достаточно сложную проблему. Например, если требуется присоединить новую группу к определенному остатку цистеина, нужно каким-то образом защитить все остальные остатки Cys в этом белке. Но если бы удалось адаптировать генетический код таким образом, чтобы заставить клетку вводить модифицированное основание в конкретное положение в белке, работать с такой системой стало бы гораздо удобнее. Питер Шульц с коллегами действовали именно так.

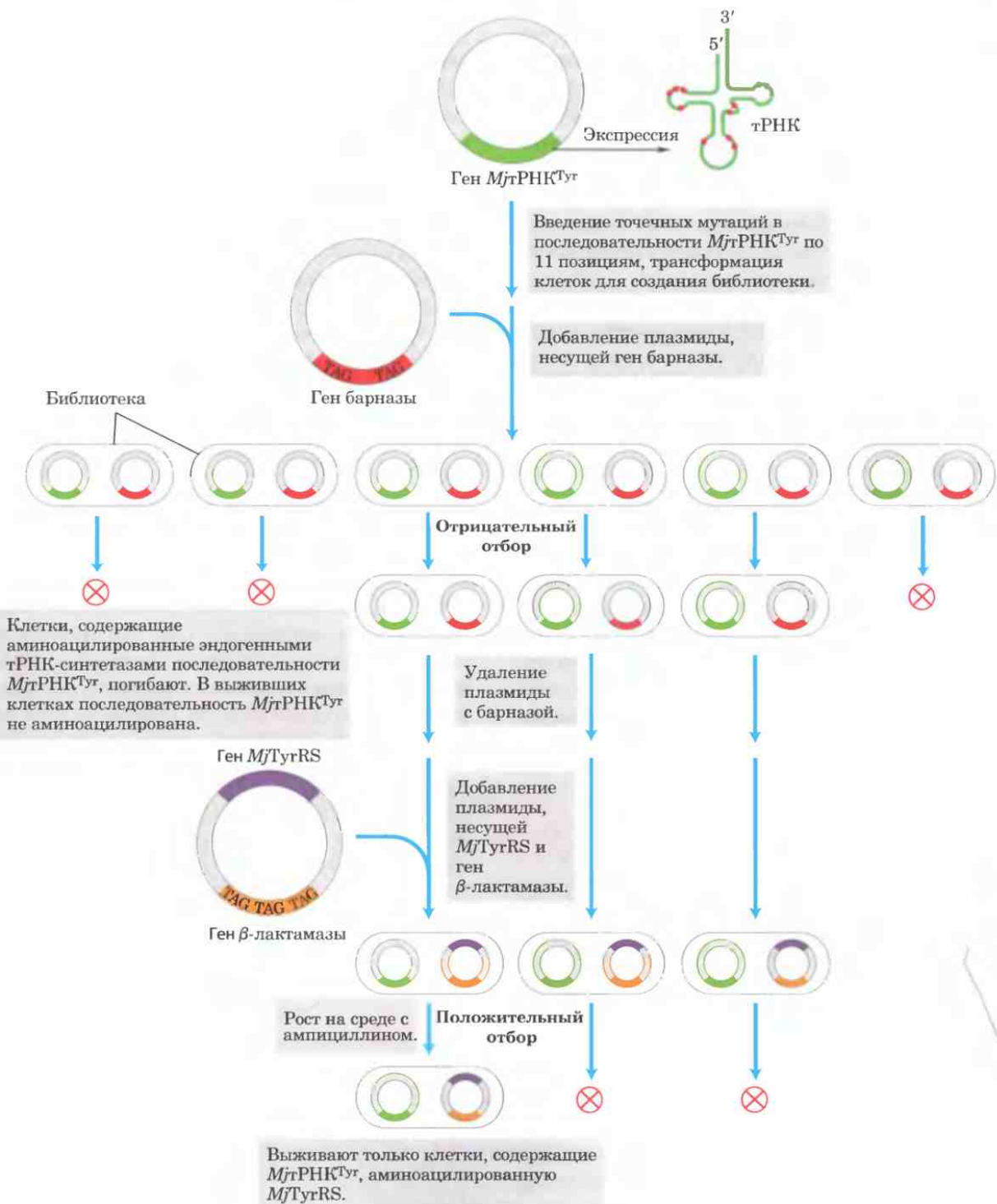
Чтобы создать кодон для новой аминокислоты, требуется новая аминоацил-тРНК-синтетаза и соответствующая новая тРНК, которые предназначены для работы исключительно с новой аминокислотой. Ученые пытались создать такой «искусственный код» в клетках *E. coli*. Для кодирования новой аминокислоты был выбран кодон UAG. Этот кодон в качестве стоп-кодона используется реже двух других, и штаммы с тРНК к этому кодону (см. доп. 27-4) нормально растут. Для создания новой тРНК и новой тРНК-синтетазы из ар-

хей *Methanococcus jannaschii* были взяты гены тирозил-тРНК и соответствующей тирозил-тРНК-синтетазы (*МjtРНК^{Tyr}* и *МjТуг-тРНК-синтетаза*). *МjТуг-тРНК-синтетаза* не связывается с антикодоновой петлей *МjtРНК^{Tyr}*, что позволило изменить антикодон на CUA (комплементарен UAG), не нарушая взаимодействия. Системы трансляции архей и бактерий ортогональны, поэтому модифицированные компоненты системы архей можно перенести в клетки *E. coli* без нарушения собственной системы трансляции бактериальных клеток.

Во-первых, нужно было модифицировать ген *МjtРНК^{Tyr}* таким образом, чтобы создать идеальную тРНК, которую не распознавали бы эндогенные аминоацил-тРНК-синтетазы *E. coli*, но которая подвергалась бы аминоацилированию под действием *МjТуг-тРНК-синтетазы*. Для поиска такого варианта была предпринята серия циклов положительного и отрицательного отбора, что позволило провести эффективный скрининг вариантов генов тРНК (рис. 1). Ген *МjtРНК^{Tyr}* был подвергнут случайному мутагенезу, что позволило создать библиотеку клонов, экспрессирующих различные версии тРНК. Кроме того, был сконструирован ген барназы (токсичной для *E. coli* рибонуклеазы), мРНК которого содержал несколько кодонов UAG, и этот ген также был введен в клетки бактерии на плазмиде. Если

Продолжение на с. 194

Рис. 1. Отбор вариантов *МjtРНК^{Tyr}*, которые взаимодействуют только со специфической тирозил-тРНК-синтетазой (*МjТуг-тРНК-синтетазой*). В последовательность гена *МjtРНК^{Tyr}*, встроенного в плазмиду, внесено 11 точечных мутаций в тех местах, которые не влияют на взаимодействие с *МjТуг-тРНК-синтетазой* (красные точки). Плазмиды с мутантным геном вводили в клетки *E. coli* для создания библиотеки, содержащей миллионы вариантов *МjtРНК^{Tyr}*, которые здесь представлены шестью клетками. Для отрицательного отбора на другой плазмиде в клетки был введен токсичный для клеток ген барназы. В этот ген была встроена последовательность TAG, так что транскрипт гена приобрел кодон UAG. Если ген барназы экспрессируется, клетки погибают. Ген мог экспрессироваться лишь в том случае, если вариант *МjtРНК^{Tyr}*, экспрессируемый определенной клеткой, подвергался аминоацилированию под действием эндогенных (т. е. принадлежащих *E. coli*) аминоацил-тРНК-синтетаз, что приводило к встраиванию аминокислоты, а не к остановке трансляции. Кроме того, в клетки был введен еще на одной плазмиде модифицированный ген β-лактамазы, также с последовательностью TAG, образующей при транскрипции стоп-кодон UAG. На той же плазмиде содержался ген *МjТуг-тРНК-синтетазы*. Эта система использовалась для положительного отбора среди оставшихся вариантов *МjtРНК^{Tyr}*. Те варианты, которые подвергались аминоацилированию под действием *МjТуг-тРНК-синтетазы*, экспрессировали ген β-лактамазы, что позволяло клеткам расти на среде с ампициллином. Через несколько циклов положительного и отрицательного отбора были выделены лучшие варианты *МjtРНК^{Tyr}*, которые подвергались аминоацилированию исключительно под действием *МjТуг-тРНК-синтетазы* и эффективно использовались для трансляции.



Дополнение 27-3 Естественное и искусственное расширение генетического кода (продолжение)

вариант $Mj\text{tRNK}^{\text{Tyr}}$, экспрессирующийся в определенных клетках из библиотеки, подвергался аминокацилированию эндогенной тРНК-синтетазой, он также экспрессировал ген барназы, и такие клетки погибали (отрицательный отбор). Выжившие клетки должны были содержать варианты тРНК, которые не подвергались аминокацилированию эндогенной тРНК-синтетазой, но, в принципе, могли подвергаться аминокацилированию $Mj\text{Tyr-tRNA}$ -синтетазой. Для положительного отбора (рис. 1) был использован генно-инженерный вариант гена β -лактамазы (сообщает клеткам устойчивость к антибиотику ампициллину), транскрипт которого содержал несколько кодонов UAG. Этот ген был введен в клетки вместе с геном $Mj\text{Tyr-tRNA}$ -синтетазы. Те варианты $Mj\text{tRNK}^{\text{Tyr}}$, которые могли подвергаться аминокацилированию под действием $Mj\text{Tyr-tRNA}$ -синтетазы, росли на среде с ампициллином только в том случае, если в них также экспрессировалась $Mj\text{Tyr-tRNA}$ -синтетаза. Несколько циклов отрицательного и положительного отбора позволили идентифицировать новый вариант $Mj\text{tRNK}^{\text{Tyr}}$, на который не действовали эндогенные ферменты, но который подвергался аминокацилированию под действием $Mj\text{Tyr-tRNA}$ -синтетазы и нормально функционировал при трансляции.

Во-вторых, нужно было модифицировать $Mj\text{Tyr-tRNA}$ -синтетазу, чтобы она распознавала новую аминокислоту. Для создания большой библиотеки

вариантов ген $Mj\text{Tyr-tRNA}$ -синтетазы подвергли мутагенезу. Те варианты, которые аминокацилировали новый вариант $Mj\text{tRNK}^{\text{Tyr}}$ с помощью эндогенных аминокислот, были исключены методом отбора с использованием гена барназы. Был проведен второй вариант положительного отбора (аналогичный отбору с помощью ампициллина), в результате клетки могли выживать лишь при условии, что новый вариант $Mj\text{tRNK}^{\text{Tyr}}$ подвергался аминокацилированию только в присутствии не природной аминокислоты. После нескольких циклов отрицательного и положительного отбора была найдена пара тРНК-синтетаза/тРНК, которая узнавала только не природную аминокислоту. Эти молекулы были переименованы, чтобы указать на не природное происхождение аминокислоты, которая была использована для отбора.

С помощью данного подхода было сконструировано много штаммов *E. coli*, каждый из которых воспринимал кодон UAG как сигнал к встраиванию только одной не природной аминокислоты. Тот же подход применяли для искусственного расширения генетического кода дрожжей и даже клеток млекопитающих. В определенные положения в последовательности клонированных белков удалось ввести свыше 30 различных аминокислот (рис. 2). Полученные результаты предоставили очень полезный и гибкий инструмент для углубленного изучения структуры и функций белка.

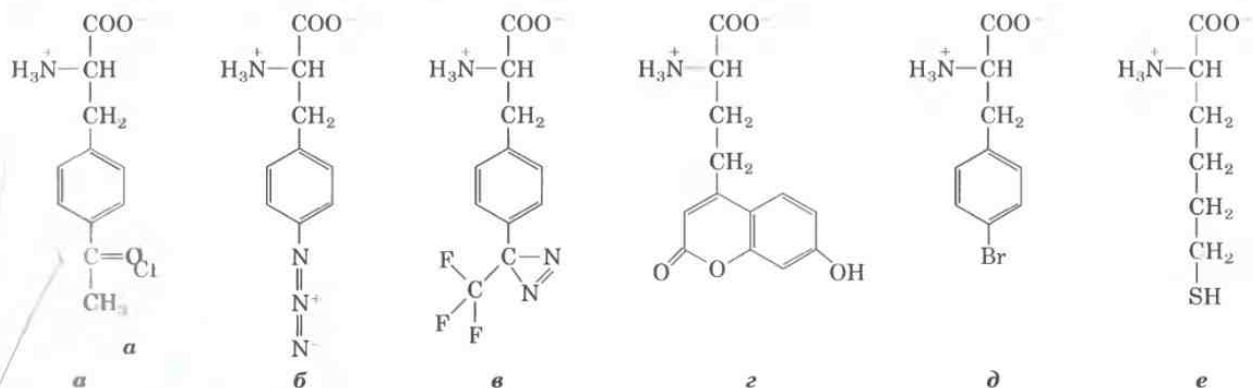


Рис. 2 Примеры не природных аминокислот, кодоны для которых добавлены в генетический код. В этих не природных аминокислотах содержатся не совсем обычные химические группы. *а* — кетогруппа; *б* — азидная группа; *в* — функциональная группа, способная образовывать ковалентные сшивки с соседними группами под действием света; *г* — аминокислота с флуоресцентными свойствами; *д* — аминокислота с тяжелым атомом Br для кристаллографических исследований; *е* — длинноцепочечный аналог цистеина, способный образовывать пролонгированные дисульфидные мостики.

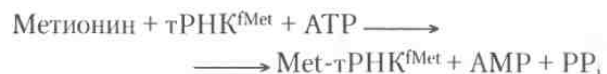
Стадия 2: синтез белка инициирует определенная аминокислота

Синтез белка начинается с N-конца и происходит путем последовательного присоединения аминокислот к C-концу растущего полипептида, что было установлено Говардом Динцисом в 1961 г. (рис. 27-24). Инициаторный кодон AUG соответствует N-концевому остатку метионина. Хотя для метионина существует лишь один кодон — (5')AUG, все организмы имеют для метионина две тРНК. Одна используется только для инициаторного кодона (5')AUG, другая — для встраивания остатка Met во внутреннее положение полипептидной цепи.

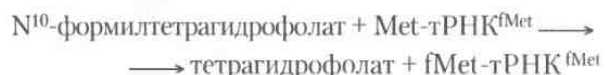


Рис. 27-24. Доказательство того, что рост полипептидной цепи происходит путем присоединения остатков аминокислот к C-концу: эксперимент Динциса. Ретикулоциты (незрелые эритроциты) — клетки, в которых происходит синтез гемоглобина, инкубировали с радиоактивно меченным лейцином (эта аминокислота была выбрана по той причине, что она часто встречается как в α -, так и в β -глобине). Через определенные промежутки времени из препарата ретикулоцитов отбирали сформированные α -цепи и определяли в них распределение радиоактивности. Темно-красные зоны показывают долю полностью сформированных α -глобиновых цепей, содержащих остатки Leu с радиоактивной меткой. На четвертой минуте метка содержится лишь в нескольких остатках со стороны C-конца цепи α -глобина, ведь через 4 мин могли сформироваться α -глобины только из тех последовательностей, синтез которых был закончен на момент добавления метки. При увеличении времени инкубации появились более длинные полипептиды, содержавшие меченые остатки, всегда на участке со стороны C-конца цепи. Так было показано, что немеченый конец полипептида (N-конец) — это инициаторный конец, и полипептидная цепь растет путем последовательного присоединения аминокислот к C-концу.

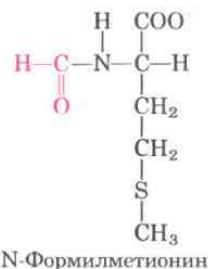
Различить инициаторный и внутренний кодоны AUG нетрудно. У бактерий есть два типа тРНК, специфичных для метионина, которые обозначаются как тРНК^{Met} и тРНК^{fMet}. Инициаторному кодону (5')AUG соответствует аминокислота N-формилметионин (fMet). Она поступает на рибосому в виде N-формилметионил-тРНК^{fMet} — формируется в ходе двух последовательных реакций. Сначала метионин присоединяется к тРНК^{fMet} ферментом Met-тРНК-синтетазой (в клетках *E. coli* этот фермент осуществляет аминоацилирование и тРНК^{Met}, и тРНК^{fMet}):



Затем трансформилаза переносит формильную группу от N¹⁰-формилтетрагидроfolата на аминогруппу остатка Met:



Трансформилаза более избирательна, чем Met-тРНК-синтаза; этот фермент специфичен для остатков метионина, присоединенных к тРНК^{fMet}, по-видимому, он распознает особенности строения этой тРНК. Met-тРНК^{Met} же вставляет метионин внутри последовательностей полипептидов.



Присоединение N-формильной группы к аминогруппе метионина под действием трансформилазы предотвращает встраивание fMet во внутренние положения в молекулах полипептидов, однако fMet-тРНК^{fMet} может связываться со специфическим инициаторным сайтом рибосомы, который не присоединяет ни Met-тРНК^{Met}, ни какие-либо другие аминоацил-тРНК.

В клетках эукариот все полипептиды, синтезируемые цитоплазматическими рибосомами, начинаются с остатка Met (а не с fMet), но и в этом

случае клетки используют специализированную инициаторную тРНК, которая отличается от тРНК^{Met} для кодонов AUG во внутренних положениях мРНК. Полипептиды, синтезируемые на рибосомах митохондрий и хлоропластов, начинаются с N-формилметионина. Это весьма убедительно подтверждает теорию, что митохондрии и хлоропласты произошли от бактериальных предков, которые на ранней стадии эволюции были включены в клетки-предшественники современных эукариотических клеток (см. рис. 1-36 в т. 1).

Каким образом единственный кодон (5')AUG может определять, встроится в данной позиции стартовый N-формилметионин (или метионин у эукариот) или внутренний остаток метионина? Ответ кроется в механизме процесса инициации.

Три стадии инициации. Для инициации синтеза полипептида у бактерий требуется (1) 30S-субъединица рибосомы, (2) мРНК синтезируемого пептида, (3) инициаторная fMet-тРНК^{fMet}, (4) набор из трех белков, называемых факторами инициации (IF-1, IF-2 и IF-3), (5) GTP, (6) 50S-субъединица рибосомы и (7) ионы Mg^{2+} . Формирование инициаторного комплекса происходит в три стадии (рис. 27-25).

На стадии ① 30S-субъединица рибосомы связывает два фактора инициации, IF-1 и IF-2. Фактор IF-3 предупреждает преждевременное соединение субъединиц 30S и 50S. Затем с 30S-субъединицей связывается мРНК. Инициаторный кодон (5')AUG попадает в правильную позицию благодаря **последовательности Шайна-Дальгарно** (в честь идентифицировавших ее австралийских исследователей Джона Шайна и Линн Дальгарно) в мРНК. Эта консенсусная последовательность из 4–9 пуриновых оснований расположена на расстоянии 8–13 п. н. в сторону

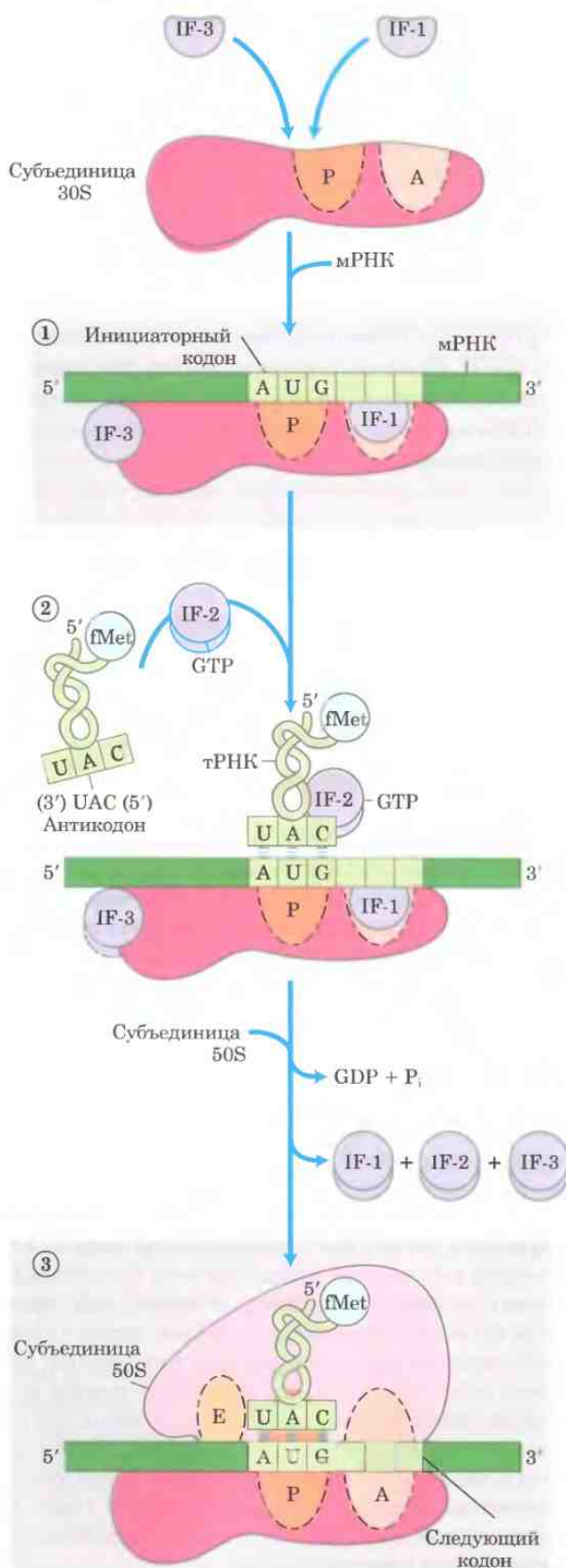


Рис. 27-25. Образование инициаторного комплекса у бактерий. Комплекс формируется в три стадии (описаны в тексте) за счет энергии гидролиза GTP с образованием GDP и P_i. Факторы IF-1, IF-2 и IF-3 — факторы инициации. P — пептидный сайт, A — аминокислотный сайт, E — сайт выхода. Антикодон тРНК ориентирован в направлении 3'→5' (слева направо), как на рис. 27-8, но в противоположном направлении по сравнению с ориентацией на рис. 27-21 и 27-23.

5'-конца от инициаторного кодона (рис. 27-26, а). Эта последовательность спаривается с комплементарной ей обогащенной пиримидинами последовательностью, находящейся вблизи 3'-конца 16S рРНК 30S-субъединицы рибосомы (рис. 27-26, б). Взаимодействие между мРНК и рРНК позволяет расположить инициаторную (5')AUG-последовательность мРНК в строго определенном участке 30S-субъединицы. От других кодонов метионина последовательность (5')AUG, с которой должна связаться fMet-тРНК^{fMet}, отличается своей близостью к последовательности Шайна–Дальгарно в мРНК.

Бактериальные рибосомы имеют три сайта связывания аминокислот-тРНК — **аминоацильный (А) и пептидильный (Р)**, а также **сайт выхода (Е)**. С сайтами А и Р связываются молекулы аминокислот-тРНК, тогда как с сайтом Е связывается исключительно ненагруженная тРНК. Сайты А и Р образованы обеими субъединицами рибосомы (30S и 50S), а сайт Е локализован

в основном в 50S-субъединице. Инициаторный кодон (5')AUG располагается в пептидильном участке — только здесь может связаться fMet-тРНК^{fMet} (рис. 27-25). Единственная аминокислот-тРНК, которая сначала связывается с Р-сайтом, — это fMet-тРНК^{fMet}. В процессе элонгации все другие поступающие молекулы аминокислот-тРНК (включая Met-тРНК^{Met}, которая связывается только с внутренними кодонами AUG) сначала связываются с сайтом А и только затем с сайтами Р и Е. Из сайта Е «разгруженные» тРНК высвобождаются на стадии элонгации. Фактор IF-1 связывается с сайтом А и предотвращает связывание тРНК с этим сайтом на стадии инициации.

К комплексу, состоящему из 30S-субъединицы рибосомы, IF-3 и мРНК, на стадии инициации 2 присоединяются GTP и инициаторная fMet-тРНК^{fMet} (рис. 27-25). Теперь антикодон этой тРНК спаривается с инициаторным кодоном мРНК.

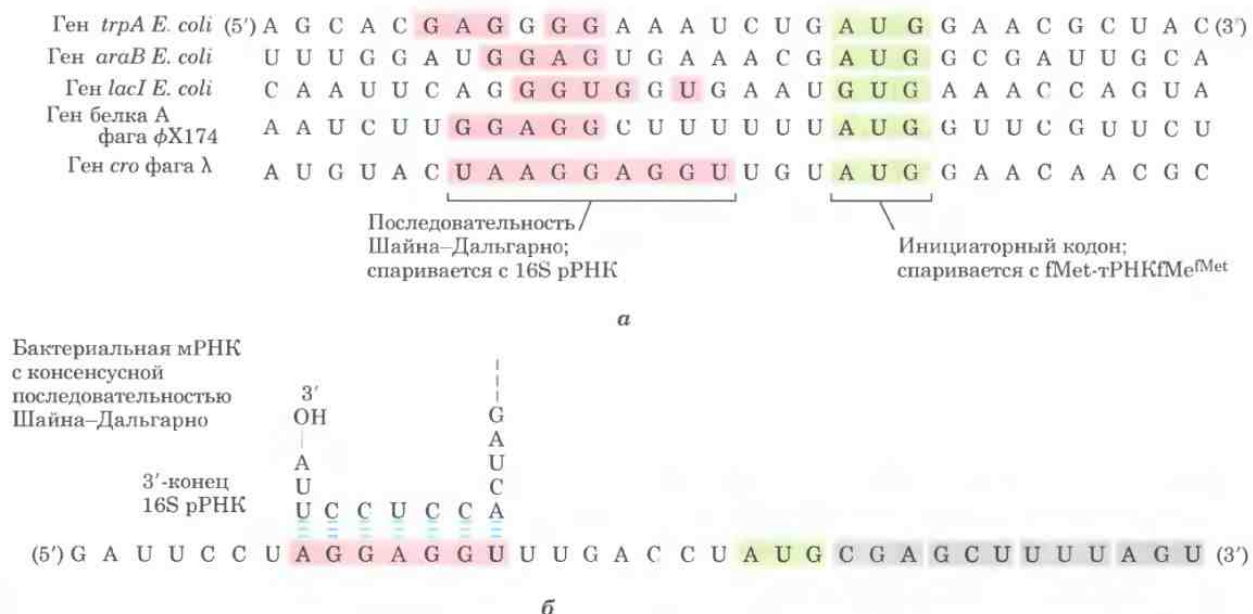


Рис. 27-26. Последовательности мРНК, которые служат сигналами инициации синтеза белка у бактерий. а — правильное расположение инициаторного кодона AUG (на зеленом фоне) в 30S-субъединице рибосомы отчасти зависит от расположенной выше последовательности Шайна–Дальгарно (на розовом фоне). Показаны фрагменты транскриптов мРНК пяти бактериальных генов. Обратите внимание на белок LacI *E. coli*, который начинается с кодона GUG (Val) (см. доп. 27-1). б — последовательность Шайна–Дальгарно в мРНК спаривается с последовательностью вблизи 3'-конца 16S рРНК.

На стадии ③ этот крупный комплекс объединяется с 50S-субъединицей рибосомы; в это же время GTP, связанный с IF-2, гидролизуется до GDP и P_i, которые высвобождаются из комплекса. В этот момент все три фактора инициации отделяются от рибосомы.

Завершение стадий (рис. 27-25) приводит к образованию функциональной 70S-рибосомы, называемой **инициаторным комплексом**, которая содержит мРНК и инициаторную fMet-tРНК^{fMet}. Правильное связывание fMet-tРНК^{fMet} на Р-сайте в инициаторном 70S-комплексе обеспечивается, как минимум, тремя точками распознавания: взаимодействием кодона и антикодона, включающим фиксирование инициаторного кодона AUG на Р-сайте; взаимодействием между последовательностью Шайна–Дальгарно в мРНК и 16S рРНК; и связыванием Р-сайта рибосомы и fMet-tРНК^{fMet}. Теперь инициаторный комплекс готов к элонгации.

Инициация в эукариотических клетках. Трансляция в эукариотических и бактериальных клетках происходит похожим образом; большинство различий касаются механизма инициации. Эукариотические мРНК взаимодействуют с рибосомой в виде комплекса с несколькими специфическими связывающими белками. Некоторые из них подтягивают друг к другу 5'- и

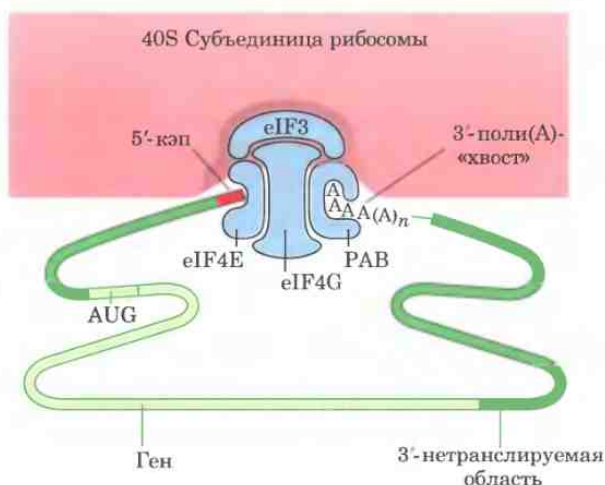


Рис. 27-27. Роль белков в формировании инициаторного комплекса у эукариот. 3'- и 5'-концы эукариотической мРНК связаны с комплексом белков, состоящим из нескольких факторов инициации и поли(А)-связывающего белка (PAB). Факторы eIF4E и eIF4G входят в состав более крупного комплекса eIF4F. Этот комплекс связывается с 40S-субъединицей рибосомы.

3'-концы матрицы РНК. С 3'-конца мРНК связывается поли(А)-связывающим белком (PAB от англ. *poly(A) binding protein*). Эукариотические клетки содержат, как минимум, девять факторов инициации. Комплекс eIF4F, который включает в себя белки eIF4E, eIF4G и eIF4A, связывает-

Таблица 27-8 Белковые факторы, необходимые для инициации трансляции в бактериальных и эукариотических клетках

Фактор	Функция
Бактерии	
IF1	Препятствует преждевременному связыванию молекул тРНК с сайтом А
IF2	Облегчает связывание fMet-тРНК ^{fMet} с 30S-субъединицей рибосомы
IF3	Связывается с 30S-субъединицей рибосомы; предупреждает преждевременное связывание 50S-субъединицы; усиливает специфичность Р-сайта к fMet-тРНК ^{fMet}
Эукариоты	
eIF2	Облегчает связывание инициаторной Met-тРНК ^{Met} с 40S-субъединицей рибосомы
eIF2B, eIF3	Первыми связываются с 40S-субъединицей рибосомы; облегчают последующие стадии
eIF4A	РНК-хеликазная активность изменяет вторичную структуру мРНК, позволяя связаться с 40S-субъединицей рибосомы; часть комплекса eIF4F
eIF4B	Связывается с мРНК; облегчает сканирование мРНК для поиска первого кодона AUG
eIF4E	Связывается с 5'-кэпом мРНК; часть комплекса eIF4F
eIF4G	Связывается с eIF4E и поли(А)-связывающим белком (PAB); часть комплекса eIF4F
eIF5	Способствует диссоциации нескольких факторов инициации из комплекса с 40S-субъединицей перед присоединением 60S-субъединицы для формирования 80S-инициаторного комплекса
eIF6	Облегчает диссоциацию неактивной 80S-рибосомы на субъединицы 40S и 60S

ся с 5'-кэпом (см. рис. 26-13) через eIF4E. Белок eIF4G взаимодействует и с eIF4E, и с РАВ, эффективно соединяя их между собой (рис. 27-27). Белок eIF4A обладает активностью РНК-хеликазы. Комплекс eIF4F соединяется с другим фактором, eIF3, и с 40S-субединицей рибосомы. Эффективность трансляции зависит от многих свойств мРНК и белков данного комплекса, включая длину 3'-поли(А)-хвоста (в большинстве случаев чем он длиннее, тем лучше). Сближение концов эукариотической мРНК облегчает регуляцию трансляции экспрессии генов (см. гл. 28).

Инициаторный кодон (5')AUG в мРНК определяется не по его близости к последовательности Шайна–Дальгарно, а путем сканирования мРНК, начиная от 5'-конца до первого встреченного кодона AUG, который указывает начало рамки считывания. Возможно, в этом процессе участвует комплекс eIF4F, который использует РНК-хеликазную активность eIF4 для удаления вторичной структуры в 5'-нетранслируемой области мРНК. Белок eIF4B тоже облегчает сканирование.

Функции различных бактериальных и эукариотических факторов инициации отражены в табл. 27-8. Механизм действия этих белков активно изучается.

Стадия 3: пептидные связи образуются на стадии элонгации

Третья стадия синтеза белка — **элонгация**. Для начала мы опять сосредоточим внимание на бактериальных клетках. Для элонгации требуется (1) описанный выше инициаторный комплекс, (2) аминоксил-тРНК, (3) три растворимых цитоплазматических белка, называемых **факторами элонгации** (EF-Tu, EF-Ts и EF-G у бактерий) и (4) GTP. В клетке присоединение каждой аминок-

кислоты происходит в три стадии, и эти стадии повторяются столько раз, сколько аминокислотных остатков нужно присоединить.

Первая стадия элонгации: связывание аминоксил-тРНК. На первой стадии цикла элонгации (рис. 27-28) соответствующая аминоксил-тРНК

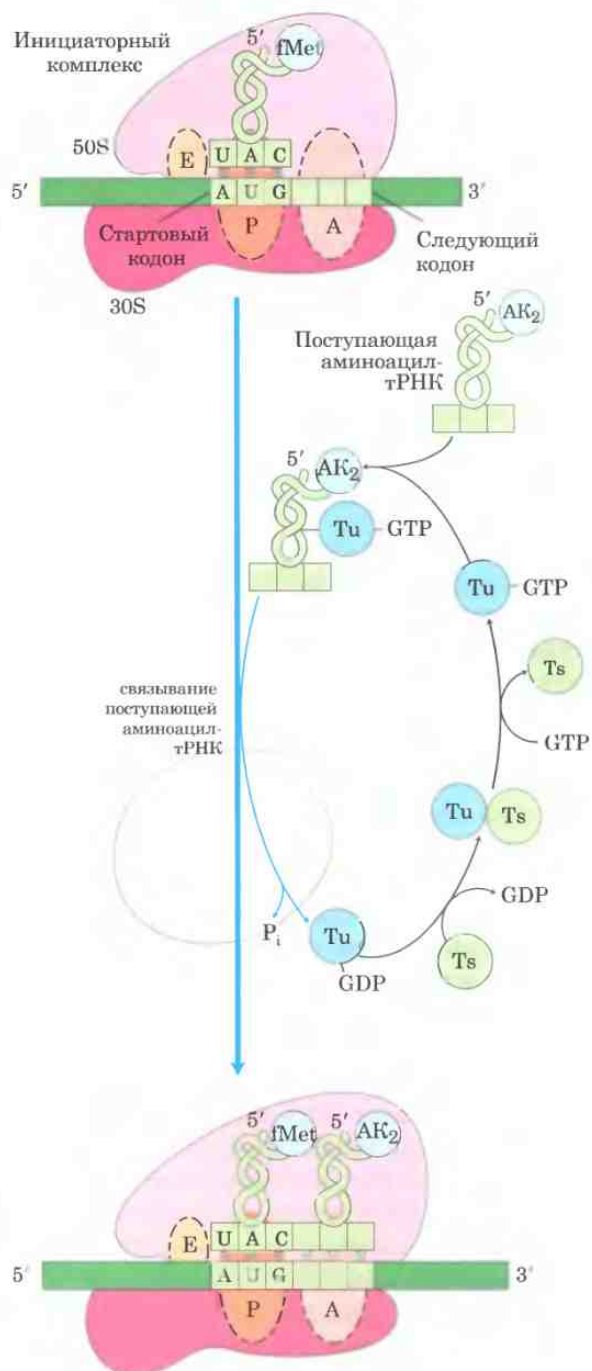


Рис. 27-28. Первая стадия элонгации у бактерий: связывание второй аминоксил-тРНК. Вторая аминоксил-тРНК связывается на А-сайте рибосомы, присоединяясь к EF-Tu (здесь просто Tu), который связан с GTP. Связывание второй аминоксил-тРНК на А-сайте сопровождается гидролизом GTP до GDP и P_i, а также отделением комплекса EF-Tu-GDP от рибосомы. Связанный GDP высвобождается, когда комплекс EF-Tu-GDP присоединяется к EF-Ts, а EF-Ts высвобождается, когда другая молекула GTP связывается с EF-Tu. В результате фактор EF-Tu готов к очередному циклу элонгации.

взаимодействует с фактором EF-Tu, связанным с GTP. Комплекс аминоацил-тРНК-EF-Tu-GTP связывается на сайте A 70S-инициаторного комплекса. Молекула GTP гидролизуется, и комплекс EF-Tu-GDP высвобождается из 70S-рибосомы. Далее при участии фактора EF-Ts и GTP комплекс EF-Tu-GTP регенерирует.

Вторая стадия элонгации: формирование пептидных связей. На этой стадии формируется пептидная связь между двумя аминокислотами, связанными через соответствующие тРНК с А- и Р-сайтами рибосомы. Инициаторная N-формилметионильная группа переносится от своей тРНК на аминогруппу второй аминокислоты, находящейся в сайте А (рис. 27-29). При этом α -аминогруппа аминокислоты в сайте А выступает в роли нуклеофила, вытесняя тРНК, находящуюся в сайте Р, и образуя пептидную связь. В результате на сайте А образуется дипептидил-тРНК, а «разгруженная» (деацилированная) тРНК^{Met} остается связанной с сайтом Р. Затем молекулы тРНК сдвигаются, занимая промежуточное положение, при котором каждая частично находится в двух сайтах рибосомы, как показано на рис. 27-29.

Исторически сложилось так, что ферментативную активность, ответственную за образование пептидной связи, называли **пептидилтрансферазной** и приписывали одному или нескольким белкам в большой субъединице рибосомы. Теперь мы знаем, что эту реакцию катализирует 23S рРНК (рис. 27-13, з) — еще один рибозим. Это открытие интересно тем, что позволяет проследить эволюционные связи (см. доп. 27-2).

Третья стадия элонгации: транслокация. На заключительной стадии цикла элонгации, называемом **транслокацией**, рибосома передвигается на один кодон по направлению к 3'-концу мРНК (рис. 27-30, а). При этом антикодон дипептидил-тРНК, который все еще присоединен ко второму кодону мРНК, сдвигается из сайта А в сайт Р, а деацилированная тРНК смещается из сайта Р в сайт Е, откуда высвобождается в цитозоль. Теперь в сайте А расположен третий кодон мРНК, а в сайте Р — второй кодон. Для передвижения рибосомы вдоль мРНК необходим фактор EF-G (транслоказа) и энергия, которая выделяется в результате гидролиза следующей молекулы

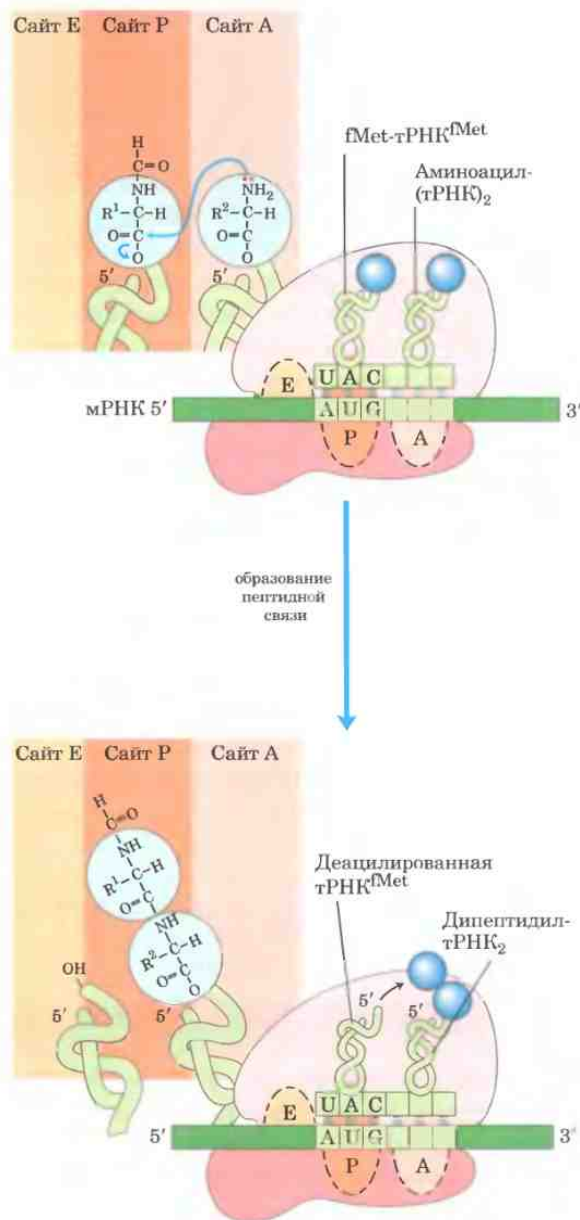


Рис. 27-29. Вторая стадия элонгации у бактерий: формирование первой пептидной связи. Пептидилтрансферазная активность, ответственная за осуществление этой реакции, принадлежит рибозиму 23S рРНК. В ходе реакции N-формилметионильная группа переносится на аминогруппу второй аминокислоты, образуя дипептидил-тРНК. При этом обе тРНК, оставаясь связанными с рибосомой, сдвигаются и занимают промежуточное положение на 50S-субъединице рибосомы. «Разгруженная» тРНК сдвигается таким образом, что ее 3'- и 5'-концы находятся на сайте Е. Аналогичным образом, 3'- и 5'-концы пептидил-тРНК перемещаются в сайт Р. Антикодоны остаются в сайтах А и Р.

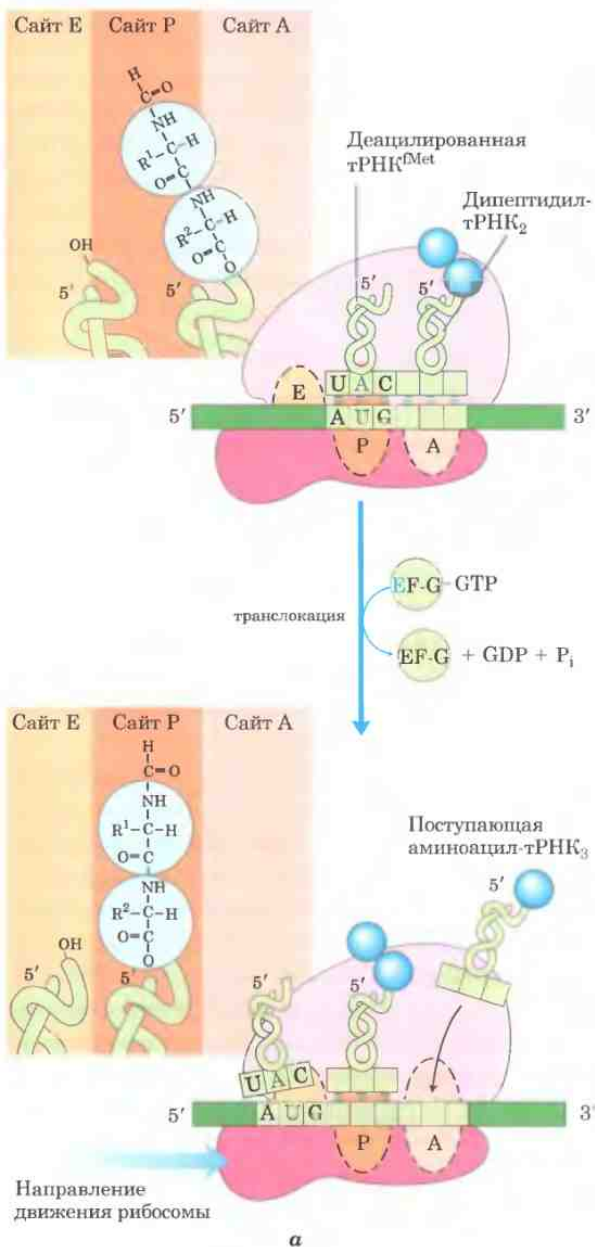


Рис. 27-30. Третья стадия элонгации у бактерий: транслокация. *а* — рибосома сдвигается на один кодон по направлению к 3'-концу мРНК, используя энергию гидролиза GTP, связанного с EF-G (транслоказой). Дипептидил- $tRNA$ полностью смещается на сайт P, а сайт A освобождается для следующей (третьей) аминоксил- $tRNA$. «Разгруженная» $tRNA$ отщепляется от сайта E, и цикл элонгации начинается снова. *б* — структура EF-G подобна структуре EF-Tu в комплексе с $tRNA$. Слева: EF-Tu, связанный с $tRNA$ (зеленая) (PDF ID 1B23); справа: EF-G, связанный с GDP (красный) (PDF ID 1DAR). С-конец EF-G (темно-серый) по форме и по распределению заряда напоминает антикодонное плечо $tRNA$.

GTP. Изменение трехмерной конформации рибосомы приводит к ее перемещению вдоль молекулы мРНК. Поскольку структура EF-G напоминает структуру комплекса EF-Tu- $tRNA$ (рис. 27-30, *б*), возможно, что EF-G связывается на сайте A и смещает пептидил- $tRNA$.

После транслокации рибосома с присоединенными к ней дипептидил- $tRNA$ и мРНК го-

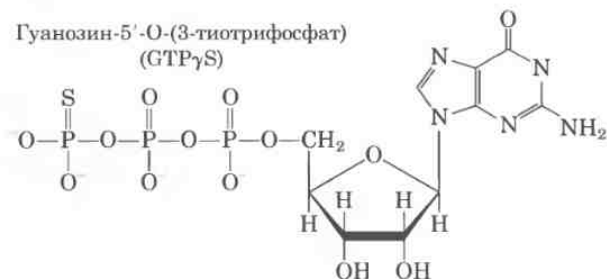
това к следующему циклу элонгации и связыванию третьего аминокислотного остатка. Этот процесс осуществляется таким же образом, как и присоединение второго остатка (рис. 27-28, 27-29 и 27-30), при продвижении рибосомы от кодона к кодону вдоль мРНК по направлению к 3'-концу. Присоединение каждого аминокислотного остатка к растущей полипептидной цепи сопровождается гидролизом двух молекул GTP до GDP и P_i .

Полипептид остается связанным с $tRNA$ своей последней (присоединенной) аминокислотой. Таким образом сохраняется взаимосвязь между информацией в мРНК и синтезом полипептида. Сложноэфирная связь между $tRNA$ и

С-концом растущего полипептида готова к тому, что ее карбоксильная группа будет нуклеофильно атакована следующей аминокислотой, что приведет к образованию новой пептидной связи (рис. 27-29). При образовании новой пептидной связи сложноэфирная связь между полипептидом и тРНК разрывается, но взаимосвязь между полипептидом и информацией в мРНК сохраняется, так как каждая новая аминокислота присоединяется к своей тРНК.

Цикл элонгации у эукариот напоминает цикл элонгации у бактерий. По функциям три фактора элонгации эукариот eEF1 α , eEF1 β и eEF2 аналогичны факторам элонгации бактерий EF-Tu, EF-Ts и EF-G. В рибосомах эукариот нет сайта E; разгруженные молекулы тРНК отщепляются от сайта P.

Коррекция ошибок на рибосоме. На первой стадии элонгации в бактериальных клетках (рис. 27-28) ГТРазная активность EF-Tu во многом определяет скорость и точность всего процесса биосинтеза. Оба комплекса EF-Tu-GTP и EF-Tu-GDP существуют всего несколько миллисекунд, а потом распадаются; за это время дважды осуществляется проверка правильности взаимодействия кодона с антикодоном. Обычно в первый раз неправильная аминокислота отщепляется от сайта A. Если вместо GTP используется его аналог гуанозин-5'-О-(3-тиотрифосфат) (GTP γ S), гидролиз замедляется, точность синтеза повышается (благодаря более длительной проверке), но снижается скорость синтеза.



В ходе эволюции синтез белка (спаривание кодона и антикодона) достиг оптимального соотношения между скоростью и точностью (например, правильность аминокислотной последовательности или спаривания оснований). Точность может замедлять скорость, а скорость может ухуд-

шить точность. Вспомните также, что механизм коррекции ошибок на рибосоме проверяет только правильность спаривания кодона с антикодоном, но не выбор присоединяемой к тРНК аминокислоты. Если тРНК связала неправильную аминокислоту (что можно сделать экспериментально), эта аминокислота успешно встроится в белковую последовательность в той позиции, где находится распознаваемый этой тРНК кодон.

Стадия 4: для прекращения синтеза полипептида нужен специальный сигнал

Элонгация продолжается до тех пор, пока рибосома не добавит последнюю аминокислоту, кодируемую мРНК. О переходе к заключительной стадии биосинтеза белка, **терминации**, сигнализирует один из трех стоп-кодонов (UAA, UAG, UGA), который располагается сразу после кодона последней аминокислоты. Мутации в антикодоне тРНК, которые позволяют встраивать аминокислоту в ответ на стоп-кодон, обычно губительны для клетки (доп. 27-4).

У бактерий, после того как стоп-кодон занимает А-сайт рибосомы, подключаются три **фактора терминации**, или **фактора высвобождения**, — белки RF-1, RF-2 и RF-3. Они участвуют (1) в гидролизе концевой связи пептидил-тРНК; (2) в высвобождении свободного полипептида и последней разгруженной молекулы тРНК из Р-сайта; и (3) в диссоциации 70S-рибосомы на субъединицы 30S и 50S, которые готовы к началу нового цикла синтеза полипептида (рис. 27-31). Фактор RF-1 распознает стоп-кодоны UAG и UAA, а RF-2 — UGA и UAA. Либо RF-1, либо RF-2 (в зависимости от стоп-кодона) связывается со стоп-кодоном; затем под действием пептидилтрансферазы растущий полипептид связывается с молекулой воды, а не с другой аминокислотой. По-видимому, факторы терминации содержат домены, имитирующие структуру тРНК, как показано на рис. 27-30, б для фактора элонгации EF-G. Специфическая функция RF-3 пока не установлена, но предполагается, что он участвует в высвобождении субъединицы рибосомы. У эукариот один фактор терминации eRF распознает все три стоп-кодона.

Высвобождение и распад рибосом на субъединицы приводит к диссоциации компонентов трансляционного комплекса. Факторы термина-

Дополнение 27-4 Индуцированные вариации генетического кода: нонсенс-супрессия

Если в результате мутации внутри гена образуется стоп-кодон, трансляция преждевременно прекращается, а незавершенный полипептид обычно оказывается неактивным. Такие мутации называются нонсенс-мутациями (бессмысленными мутациями). Нормальная функция гена может быть восстановлена в результате второй мутации, которая (1) превращает ошибочный стоп-кодон в кодон какой-нибудь аминокислоты, или (2) подавляет действие стоп-кодона. Такие восстановительные мутации называются **нонсенс-супрессорами**; они обычно происходят в генах тРНК и приводят к образованию измененных (супрессорных) молекул тРНК, способных распознавать стоп-кодон и встраивать на это место аминокислоту. В антикодонах большинства известных супрессорных молекул тРНК произошла замена одного основания.

Супрессорные тРНК создают экспериментально индуцированные вариации генетического кода, позволяя производить считывание со стоп-кодонов, по аналогии с природными вариациями кода, описанными в доп. 27-1. Нонсенс-супрессии не полностью блокируют нормальный процесс передачи информации в клетке, поскольку обычно в клетке содержится несколько копий гена каждой тРНК; некоторые из этих копий слабо экспрессируются и составляют незначительную часть клеточного пула конкретной тРНК. Супрессорные мутации обычно затрагивают эти «минорные» копии тРНК, а основная тРНК продолжает нормально считывать соответствующий кодон.

Например, *E. coli* имеет три идентичных гена для тРНК^{Tyr}, с каждого из которых синтезируется тРНК

с антикодоном (5')GUA. Один из этих генов экспрессируется относительно интенсивно, и его продукт представляет основной тип тРНК^{Tyr}; два других гена транскрибируются очень слабо. В антикодоне одного из этих двух продуктов происходит замена (5')GUA на (5')CUA, приводящая к синтезу минорной тРНК^{Tyr}, которая на месте стоп-кодонов UAG встраивает тирозин. Встраивание тирозина на месте кодона UAG происходит с низкой эффективностью, но это позволяет синтезировать достаточное количество полноразмерного белка с гена, несущего нонсенс-мутацию, что позволяет клетке выжить. Основная тРНК^{Tyr} продолжает нормально транслировать генетический код для синтеза большинства белков.

Мутация, приводящая к возникновению супрессорной тРНК, не всегда затрагивает антикодон. Супрессия нонсенс-кодонов UGA обычно происходит в тРНК^{Tyr}, которая в норме распознает UGG. Изменение, которое позволяет считывать UGA (и встраивать в это положение остатки Trp), заключается в замене G на A в позиции 24 (в отдаленном от антикодона плече тРНК); теперь эта тРНК может распознавать *оба* кодона — и UGG, и UGA. Похожее изменение обнаружено в тРНК, участвующих в наиболее распространенном природном изменении генетического кода (UGA=Trp; см. доп. 27-1).

Супрессия может привести к образованию большого количества аномально длинных белков, но это происходит не всегда. Пока нам известны лишь некоторые подробности молекулярных событий, происходящих при терминеции трансляции и нонсенс-супрессии.

ции уходят из комплекса (с разгруженной тРНК в Р-сайте) и заменяются на EF-G и так называемый фактор рециклизации рибосом (RRF; M_r 20 300). Гидролиз GTP под действием EF-G приводит к уходу 50S-субъединицы из комплекса 30S-тРНК-мРНК. Факторы EF-G и RRF заменяются на IF-3, который способствует высвобождению тРНК. Затем отделяется мРНК. После этого комплекс IF-3 и 30S-субъединицы готов инициировать новый раунд синтеза белка (рис. 27-25).

Энергетическая стоимость точности (правильности) синтеза белка. Синтез белка на основе закодированной в мРНК информации требует

энергетических затрат. На формирование каждой аминокислоты-тРНК затрачиваются две высокоэнергетические фосфатные группы. Каждый раз, когда ошибочно активированная аминокислота гидролизуется под действием деацилирующей способности аминокислот-тРНК-синтетазы, расходуется еще одна молекула АТФ. Одна молекула GTP расщепляется на GDP и P_i во время первой стадии элонгации, и еще одна — при транслокации. Таким образом, для образования каждой пептидной связи в полипептиде требуется энергия гидролиза, как минимум, четырех молекул NTP до NDP.

Это обеспечивает более чем достаточный термодинамический стимул для процесса син-

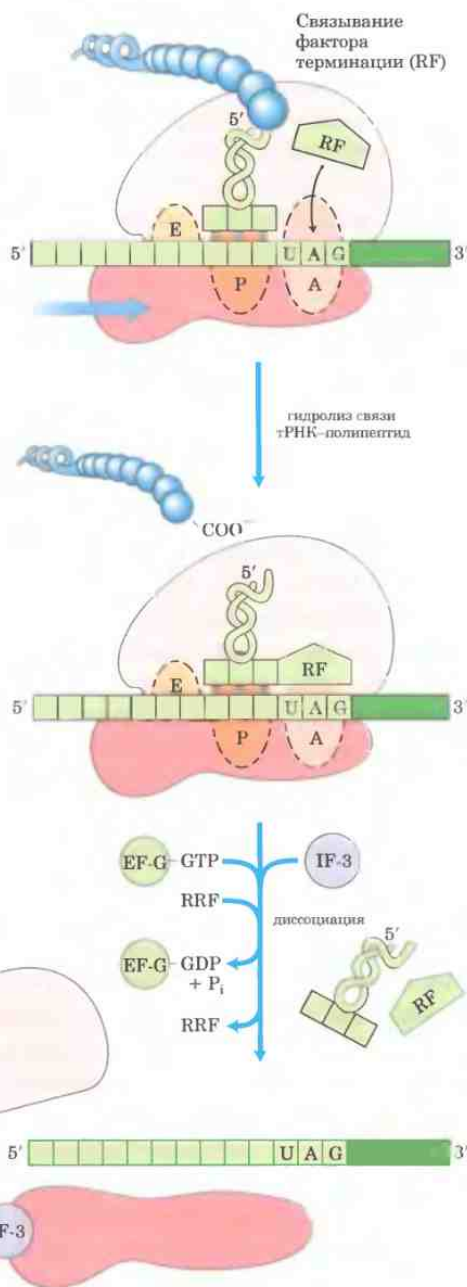


Рис. 27-31. Терминация синтеза белка у бактерий. Терминация происходит в ответ на стоп-кодон в сайте А. Сначала фактор терминирования RF (RF-1 или RF-2, в зависимости от стоп-кодона) связывается с сайтом А. Это приводит к гидролизу эфирной связи между полипептидом и тРНК в сайте Р и высвобождению завершеного полипептида. В конце мРНК, деацилированная тРНК, и фактор терминирования покидают рибосому, которая диссоциирует на 30S- и 50S-субъединицы при участии фактора рециклизации рибосом (RRF), фактора инициации IF-3 и за счет энергии, которая выделяется при гидролизе GTP, опосредованном фактором EF-G. Комплекс 30S-субъединицы с IF-3 готов к началу следующего цикла трансляции (см. рис. 27-25).

информационные биополимеры. Биохимическая цель реакций пептидного синтеза заключается не просто в образовании любой пептидной связи, а связи между двумя *определенными* аминокислотами. Каждое из богатых энергией фосфатных соединений, затраченных в этом процессе, играет важную роль в обеспечении правильного соответствия между каждым новым кодоном в мРНК и соответствующей аминокислотой в растущем полипептиде. Затраченная энергия обеспечивает очень высокую точность трансляции генетической информации из мРНК в аминокислотную последовательность белка.

Быстрая трансляция одной матрицы полисомами. Из бактериальных и эукариотических клеток можно выделить крупные кластеры из 10–100 рибосом, проявляющие высокую активность в синтезе белка. На электронных микрофотографиях видно, что рибосомы образуют кластеры — **полисомы**, в которых соседние рибосомы соединены между собой тонкими волокнами (**рис. 27-32**). Эти волокна представляют собой молекулы мРНК, с которых происходит трансляция белка одновременно многими близко расположенными рибосомами, что значительно повышает эффективность процесса.

У бактерий процессы транскрипции и трансляции тесно связаны между собой. Молекулы мРНК синтезируются и транслируются в одном и том же направлении (5'→3'). Рибосомы начинают трансляцию 5'-конца мРНК еще до завершения транскрипции (**рис. 27-33**). Совершенно иная ситуация наблюдается в клетках эукариот, где вновь синтезированные молекулы мРНК сна-

теза: по меньшей мере энергия четырех фосфодиэфирных связей идет на образование одной пептидной связи, стандартная свободная энергия гидролиза которой составляет лишь около –21 кДж/моль: $4 \times 30,5 \text{ кДж/моль} = 122 \text{ кДж/моль}$. Таким образом, суммарное изменение свободной энергии в реакции синтеза пептидной связи составляет –101 кДж/моль. Белки — это

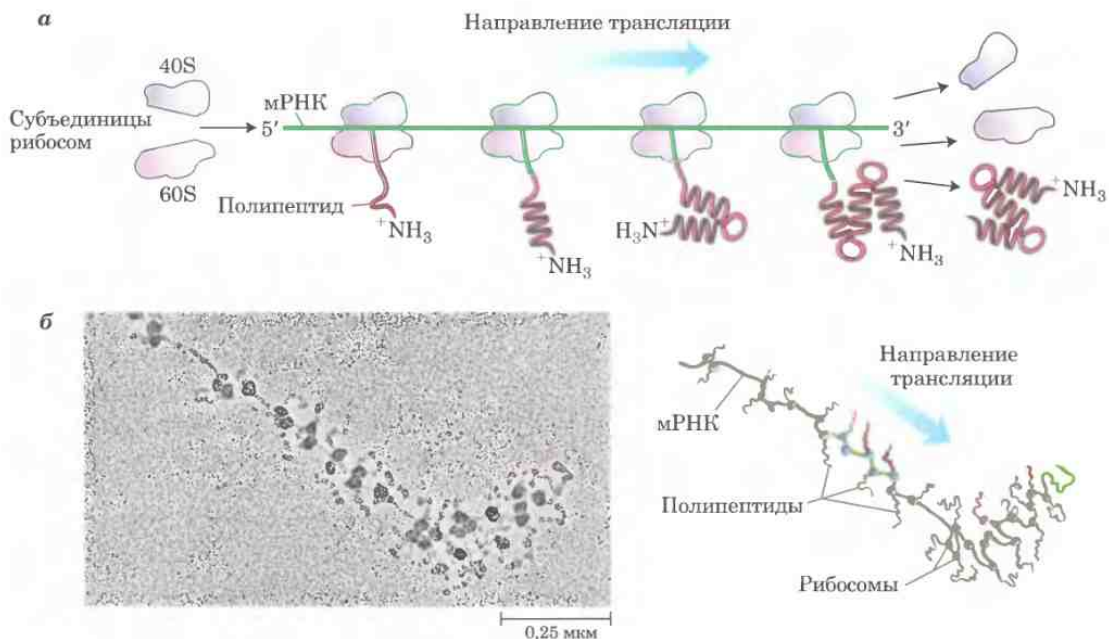


Рис. 27-32. Полисома. а — четыре рибосомы, одновременно транслирующие одну эукариотическую молекулу мРНК, движутся от 5'-к 3'-концу и синтезируют полипептид с N-конца к С-концу. б — электронная микрофотография; схема поясняет строение полисомы из шелковой железы личинки шелковичного червя. Трансляцию мРНК одновременно осуществляет множество рибосом. Растущий полипептид удлиняется по мере передвижения рибосом в направлении к 3'-концу мРНК. Конечный продукт этого процесса — шелковое волокно.

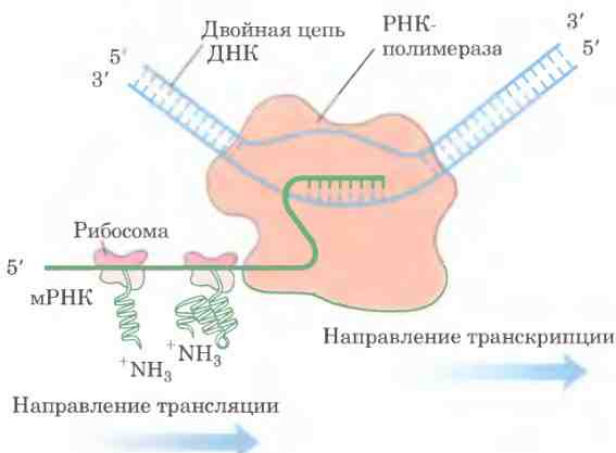


Рис. 27-33. Сопряжение транскрипции и трансляции у бактерий. Рибосомы уже начинают трансляцию мРНК, которая еще не закончила транскрибироваться РНК-полимеразой с матрицы ДНК. Это возможно по той причине, что для встречи с рибосомами бактериальная мРНК не должна транспортироваться из ядра в цитоплазму. На схеме рибосомы изображены более мелкими, чем РНК-полимераза. На самом деле рибосомы ($M_r = 2,7 \cdot 10^6$) на порядок крупнее РНК-полимеразы ($M_r = 3,9 \cdot 10^5$).

чала покидают ядро и лишь затем используются для синтеза белка.

Молекулы бактериальной мРНК обычно существуют всего несколько минут (разд. 26.2), а потом разрушаются нуклеазами. Для поддержания высоких темпов синтеза белка каждая мРНК должна синтезироваться постоянно и транслироваться с максимальной эффективностью. Краткость существования мРНК у бактерий позволяет быстро прекратить синтез, если белок больше не нужен.

Стадия 5: вновь синтезированные полипептиды сворачиваются и процессируются

На заключительной стадии синтеза белка образующаяся цепь полипептида сворачивается в биологически активную форму. Во время синтеза или после него полипептид постепенно приобретает свою нативную конформацию, при этом образуются водородные связи, проявляются ван-дер-ваальсовы, ионные и гидрофобные взаимодействия. В результате линейная, т. е.

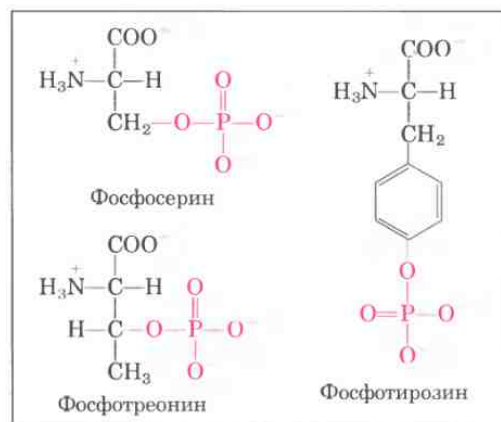
одномерная, генетическая информация мРНК преобразуется в трехмерную структуру белка. Некоторые вновь синтезированные белки бактерий, архей и эукариот не принимают окончательной биологически активной конформации до тех пор, пока не подвергнутся некоторым реакциям процессинга, называемым **посттрансляционными модификациями**.

Модификации N-конца и C-конца. Первый аминокислотный остаток во всех полипептидах — N-формилметионин (у бактерий) или метионин (у эукариот). Однако в процессе образования функционального белка формильная группа, N-концевой остаток метионина и несколько других N-концевых остатков (а иногда и C-концевых остатков) могут удаляться ферментативным путем. Примерно у 50% эукариотических белков аминокислотная группа N-концевого остатка после трансляции подвергается N-ацилированию. C-концевые остатки тоже иногда модифицируются.

Удаление сигнальной последовательности. Как мы увидим в разд. 27.3, у некоторых белков N-концевая последовательность из 15–30 остатков нужна для доставки белка к месту его назначения в клетке. Такие **сигнальные последовательности** удаляются специфическими пептидазами.

Модификация некоторых аминокислот. Гидроксильные группы некоторых остатков Ser, Thr и Tug в некоторых белках подвергаются ферментативному фосфорилированию под действием АТФ (рис. 27-34, а); фосфатные группы сообщают полипептидам отрицательный заряд. Функциональное значение этих модификаций в разных белках различно. Например, молочный белок казеин содержит много фосфатных групп, которые связывают ионы Ca^{2+} . Кальций, фосфат и аминокислоты — три важных компонента питания новорожденных. И, как мы видели на многочисленных примерах, циклы фосфорилирования-дефосфорилирования регулируют активность многих ферментов и регуляторных белков.

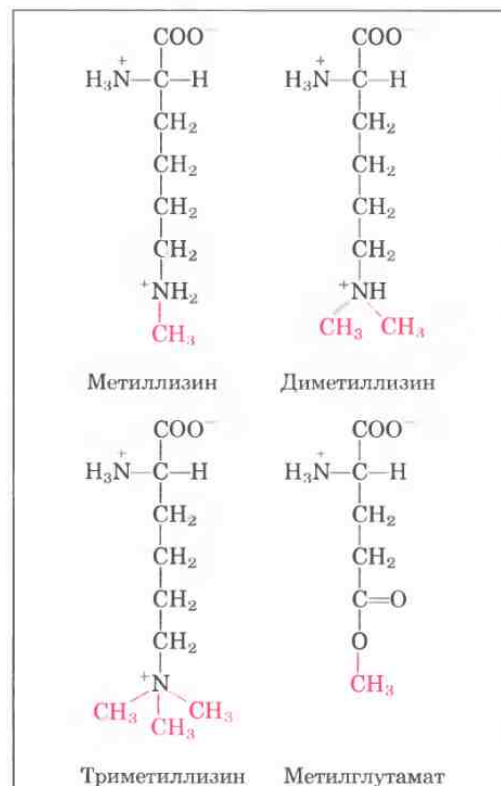
Рис. 27-34. Некоторые модифицированные аминокислотные остатки. а — фосфорилированные аминокислоты. б — карбоксилированная аминокислота. в — некоторые метилированные аминокислоты.



а



б



в

К остаткам Glu некоторых белков могут присоединяться дополнительные карбоксильные группы. Например, белок системы свертывания крови протромбин в N-концевой области содержит несколько остатков γ -карбоксиглутамата (рис. 27-34, б), присоединенных витамин-К-зависимым ферментом. Эти карбоксильные группы связывают ионы Ca^{2+} , необходимые для инициации механизма свертывания.

В некоторых мышечных белках и в цитохроме с присутствуют остатки монометил- и диметиллизина (рис. 27-34, в). У большинства видов организмов белок кальмодулин содержит один остаток триметиллизина в определенной позиции полипептидной цепи. В других белках карбоксильные группы некоторых остатков Glu подвергаются метилированию, что нейтрализует отрицательный заряд белков.

Присоединение углеводных боковых цепей. Углеводные боковые цепи гликопротеинов присоединяются ковалентной связью во время или после синтеза полипептида. В некоторых гликопротеинах углеводные боковые цепи присоединяются ферментативным путем к остаткам Asn (N-связанные олигосахариды), у других — к остаткам Ser или Thr (O-связанные олигосахариды) (см. рис. 7-29 в т. 1). Многие внеклеточные белки, а также протеогликаны мембран клеток слизистых оболочек, содержат олигосахаридные боковые цепи (см. рис. 7-27).

Присоединение изопренильных групп. Некоторые эукариотические белки модифицируются путем присоединения изопренильных групп (производные изопреена). Между изопренильной группой и остатком Cys в белке образуется тиоэфирная связь (см. рис. 11-14 в т. 1). Изопренильные группы образуются из пиррофосфорилированных интермедиатов биосинтеза холестерина (см. рис. 21-35 в т. 2), таких как фарнезилпиррофосфат (рис. 27-35). К таким белкам относятся Ras-белки — продукты онкогенов и протоонкогенов *ras*, и G-белки (и те, и другие обсуждаются в гл. 12 в т. 1), а также ламины — белки хромосомного остова. Изопренильная группа помогает закорить белок на мембране. Трансформирующая (канцерогенная) активность онкогена *ras* исчезает при дефекте изопренилирования белка Ras; это открытие стимулировало поиск ингибиторов для применения в противоопухолевой химиотерапии.

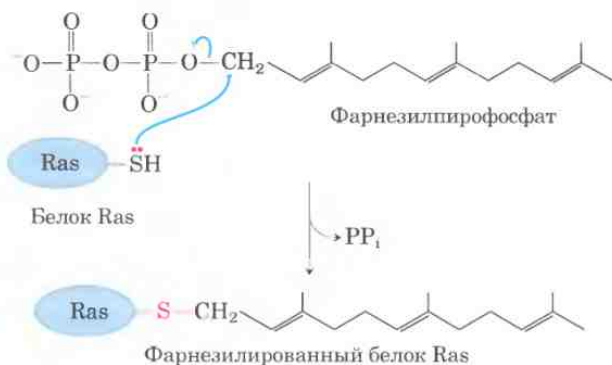


Рис. 27-35. Фарнезилирование остатка Cys. Тиоэфирная связь выделена красным цветом. Белок Ras — продукт онкогена *ras*.

Присоединение простетических групп. Активность многих белков бактерий и эукариот зависит от наличия присоединенных ковалентной связью простетических групп. Два характерных примера — молекула биотина в ацетил-КоА-карбоксилазе и гем в гемоглобине или цитохроме с.

Протеолитический процессинг. Многие белки синтезируются в виде крупных неактивных предшественников, которые в результате протеолиза превращаются в более короткие активные формы. К таким белкам относятся проинсулин, некоторые вирусные белки и протеазы, включая химотрипсиноген и трипсиноген (см. рис. 6-38 в т. 1).

Образование дисульфидных мостиков. В некоторых белках, находящихся в нативной конформации, образуются внутримолекулярные или межмолекулярные дисульфидные мостики между остатками Cys. У эукариот дисульфидные связи часто встречаются в белках, выступающих за пределы клетки. Сульфидные мостики защищают нативную конформацию белка от денатурации во внеклеточной среде, которая может существенно отличаться от внутриклеточной среды и обычно является окислительной.

Многие антибиотики и токсины ингибируют синтез белка

Синтез белка — самый важный клеточный процесс и мишень для действия многих природных антибиотиков и токсинов. За небольшими исключениями, антибиотики ингибируют синтез белков у бак-

терий. Несмотря на совсем незначительные различия путей белкового синтеза у бактерий и эукариот, только для клеток эукариот обсуждаемые ниже соединения неопасны, т. е. не оказывают токсического эффекта. Удивительно то, что синтезируемые одними микроорганизмами соединения оказываются токсичными для других микроорганизмов. Биосинтез белка на любой стадии может специфически подавляться каким-то антибиотиком, поэтому антибиотики могут предоставить нам ценный инструмент для изучения биосинтеза белка.

Пурамицин, продуцируемый актиномицетом *Streptomyces alboniger*, — один из самых из-

ученных антибиотиков-ингибиторов. Его структура очень напоминает 3'-конец аминокислот-тРНК, и поэтому он способен связываться на сайте А рибосомы и участвовать в образовании пептидной связи, превращаясь в пептидилпурамицин (рис. 27-36). Но так как пурамицин напоминает только 3'-конец тРНК, он не может участвовать в транслокации и выходит из рибосомы вскоре после связывания с С-концом пептида. Это приводит к преждевременному прекращению синтеза белка.

Тетрациклины ингибируют синтез белка в клетках бактерий, поскольку блокируют А-сайт

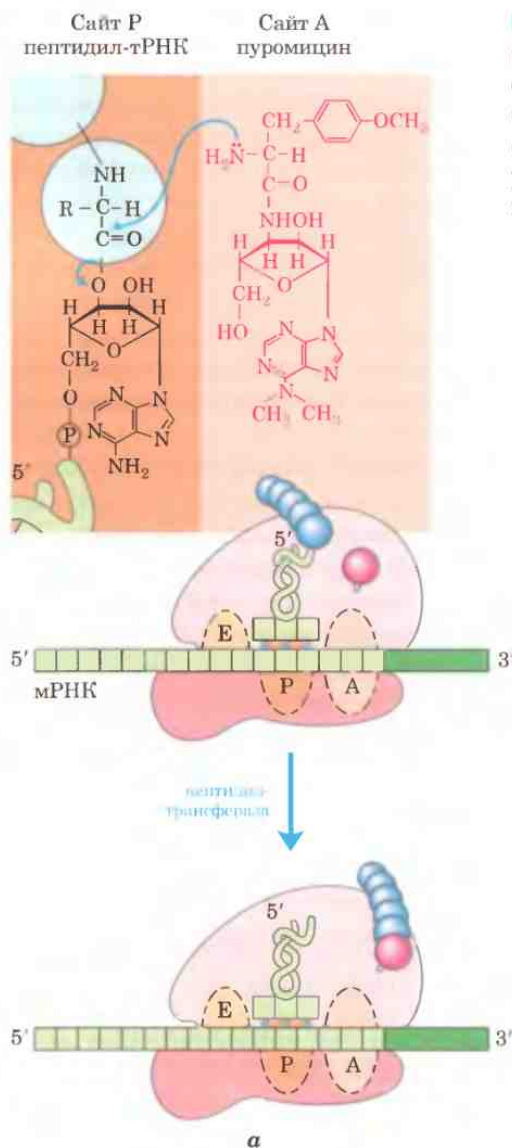
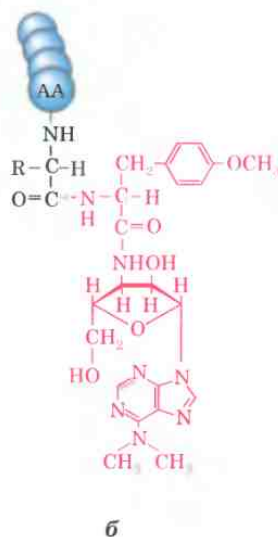
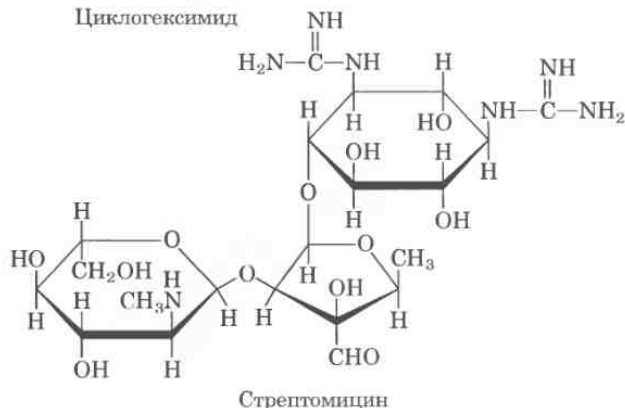
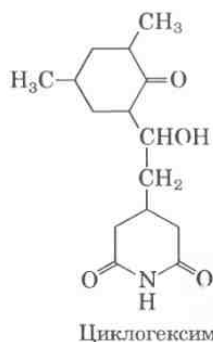
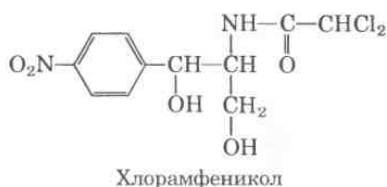


Рис. 27-36. Нарушение образования пептидной связи в присутствии пурамицина. а — структура антибиотика пурамицина напоминает структуру аминокислотного конца нагруженной тРНК, и поэтому он может связываться с А-сайтом рибосомы и принимать участие в образовании пептидной связи (см. рис. 27-13, з). Но продукт этой реакции не перемещается к сайту Р, а покидает рибосому, вызывая преждевременный обрыв цепи. б — пептидилпурамицин.



рибосомы и препятствуют связыванию молекул аминоацил-тРНК. **Хлорамфеникол** ингибирует синтез белка рибосомами бактерий (а также митохондрий и хлоропластов), подавляя пептидилтрансферазную активность; он не влияет на синтез белка в цитоплазме эукариот. **Циклогексимид** блокирует пептидилтрансферазу эукариотических 80S-рибосом, но не бактериальных 70S-рибосом (а также рибосом митохондрий и хлоропластов). Трисахарид **стрептомицин** в низкой концентрации нарушает считывание генетического кода (у бактерий), в более высокой концентрации подавляет инициацию.



Некоторые ингибиторы синтеза белка токсичны для человека и других млекопитающих. **Дифтерийный токсин** ($M_r = 58\,330$) катализирует ADP-рибозилирование остатка дифтамида (модифицированного гистидина) эукариотического фактора элонгации eEF2, тем самым его инактивируя. **Рицин** ($M_r = 29\,895$) — очень токсичный белок из клещевины, он инактивирует 60S-субъединицу эукариотических рибосом путем депуринизации специфического аденозина в 23S рРНК.

Краткое содержание раздела 27.2 СИНТЕЗ БЕЛКОВ

- Синтез белков происходит на рибосомах, которые состоят из белка и рРНК. Бактерии содержат 70S-рибосомы, состоящие из большой (50S) и малой (30S) субъединиц. Эукариотические рибосомы намного крупнее (80S) и содержат больше белков.
- Транспортные РНК (тРНК) содержат от 73 до 93 нуклеотидных остатков, среди которых есть остатки с модифицированными основаниями. Каждая тРНК имеет аминокислотное плечо с концевой последовательностью CCA(3'), к которой в результате реакции этерификации присоединяется аминокислота, антикодоновое плечо, плечо ТψС и плечо D; некоторые тРНК имеют пятое плечо. Антикодон отвечает за специфическое взаимодействие между аминоацил-тРНК и комплементарным кодоном мРНК.
- Рост полипептидов на рибосомах начинается с N-концевой аминокислоты и происходит путем постепенного добавления новых остатков к С-концу.
- Синтез белка происходит за пять стадий.
 1. Аминокислоты активируются специфическими аминоацил-тРНК-синтетазами в цитоплазме. Эти ферменты катализируют образование аминоацил-тРНК с одновременным расщеплением АТР до АМР и PP_i. Точность синтеза белка в целом зависит от точности этой реакции, и некоторые из этих

ферментов обладают независимыми центрами корректирующей активности.

2. Во всех белках бактерий инициаторная аминокислота — N-формилметионил-тРНК^{fMet}. Инициация синтеза белка заключается в формировании комплекса между 30S-субъединицей рибосомы, мРНК, GTP, fMet-тРНК^{fMet}, тремя факторами инициации и 50S-субъединицей; GTP расщепляется до GDP и P_i.

3. В процессе элонгации для связывания следующей аминокислота-тРНК на сайте А в рибосоме требуются GTP и факторы элонгации. В первой пептидилтрансферазной реакции остаток fMet переносится на аминогруппу следующей аминокислота-тРНК. Далее при перемещении рибосомы вдоль молекулы мРНК происходит перенос дипептидил-тРНК с сайта А на сайт Р, что сопровождается гидролизом молекулы GTP. Деацилированные на сайте Е молекулы тРНК покидают рибосому.

4. После многократного повторения циклов элонгации синтез полипептида прекращается при участии факторов высвобождения. Для образования каждой пептидной связи требуется по меньшей мере четыре высокоэнергетических фосфатных эквивалента (в виде АТФ и GTP); такие энергетические затраты необходимы для обеспечения высокой точности трансляции.

5. Синтезированные полипептиды переходят в активную трехмерную конформацию. Многие белки после синтеза подвергаются посттрансляционным модификациям.

■ Многие хорошо изученные антибиотики и токсины ингибируют некоторые стадии синтеза белка.

Только теперь мы начинаем понимать этот сложный и удивительный процесс. Первые этапы метаболизма белков, предназначенных для секреции, интеграции в плазматическую мембрану или заключения в лизосомы, обычно происходят в эндоплазматическом ретикулуме. Белки митохондрий, хлоропластов и ядер используют три разных транспортных пути, а цитозольные белки просто остаются там, где были синтезированы.

Очень важную роль при доставке белков к месту их постоянной локализации играет короткая последовательность аминокислот, называемая **сигнальной последовательностью**. Ее функция была впервые определена Гюнтером Блобелом с коллегами в 1970 г. Сигнальная последовательность направляет белок к месту его локализации в клетке, и у многих белков она удаляется во время транспортировки или после того, как белок достигает места назначения. В белках, предназначенных для транспортировки в митохондрии, хлоропласты или эндоплазматическую сеть, сигнальная последовательность находится на N-конце только что синтезированного полипептида. Во многих случаях способность конкретной сигнальной последовательности доставлять белок была подтверждена экспериментально путем слияния сигнальной последовательности одного белка с другим белком. В результате сигнальная последовательность направляет второй белок к месту обычной локализации первого белка. Избирательное расщепление белков, которые больше не нужны клетке, тоже направляется набором молекулярных сигналов, заложенных в структуре каждого белка.

27.3. Транспорт и расщепление белков

Эукариотическая клетка состоит из отделов и органелл, которые выполняют специфические функции, требующие разных наборов белков и ферментов. Эти белки (за исключением тех, которые образуются в митохондриях и пластидах) синтезируются на рибосомах в цитоплазме, откуда каким-то образом они должны попадать к местам своего целевого назначения.



Гюнтер Блобел

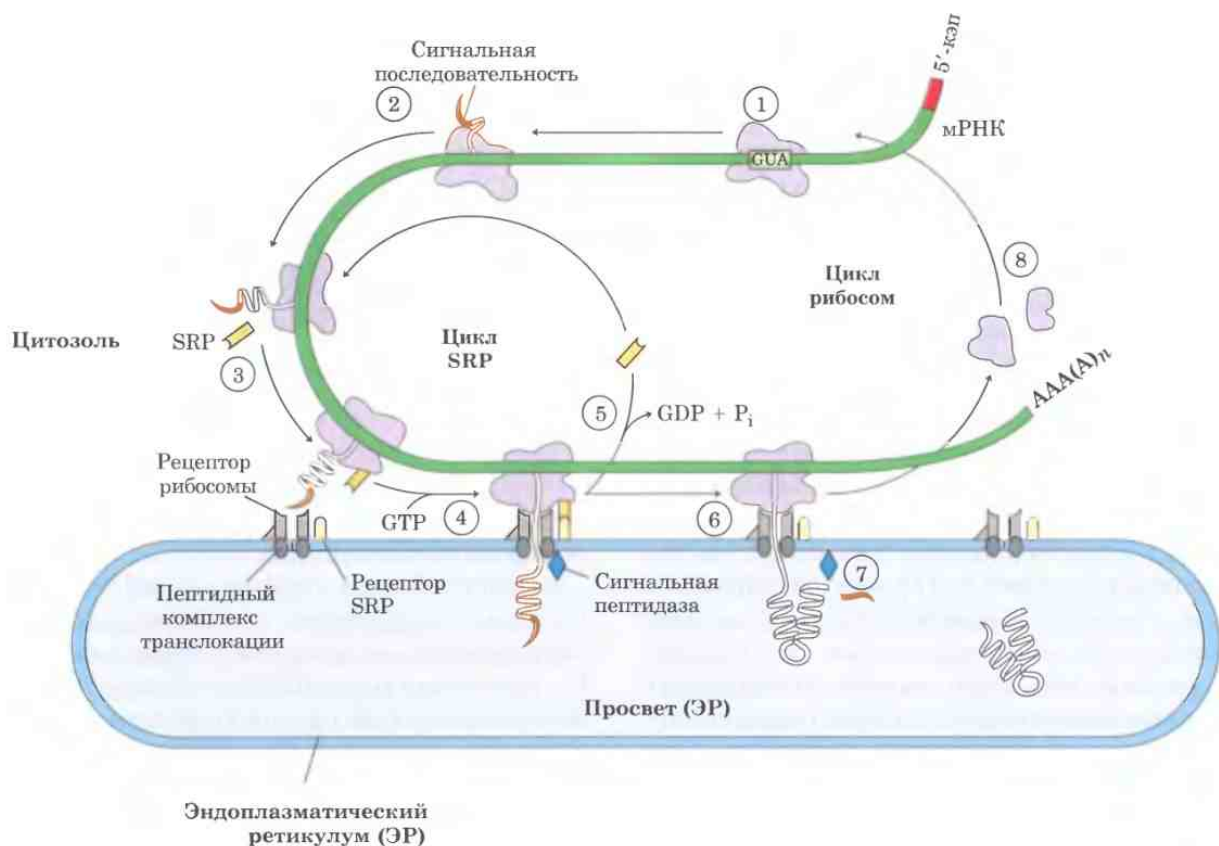


Рис. 27-38. Доставка эукариотических белков с сигнальными последовательностями в эндоплазматический ретикулум. Этот процесс включает цикл SRP, транслокацию и расщепление вновь образованного полипептида (см. текст). Комплекс SRP имеет форму палочки; он содержит РНК из 300 нуклеотидов (7 SL-РНК) и шесть разных белков (общая масса 325 000). Одна белковая субъединица SRP связывается непосредственно с сигнальной последовательностью и останавливает элонгацию, блокируя доступ молекул аминоксил-тРНК и ингибируя пептидилтрансферазу. Другая белковая субъединица связывает и гидролизует GTP. Гетеродимерный рецептор SRP состоит из субъединиц α ($M_r = 69\,000$) и β ($M_r = 30\,000$), каждая связывает и гидролизует большое количество молекул GTP.

примерно 70 аминокислот, а сигнальная последовательность уже полностью вышла за пределы рибосомы. ④ Теперь GTP-связанный SRP направляет рибосому (все еще связанную с мРНК) и незаконченный полипептид к рецепторам GTP-связанного SRP на цитоплазматической поверхности ЭР; образованный полипептид доставляется к комплексу транслокации белка в ЭР, который может непосредственно взаимодействовать с рибосомой. ⑤ SRP отделяется от рибосомы, что сопровождается гидролизом GTP как в SRP, так и в рецепторе SRP. ⑥ Элонгация полипептида возобновляется при помощи АТФ-зависимого

комплекса транслокации, направляющего растущий полипептид в просвет ЭР до тех пор, пока не синтезируется весь белок. ⑦ Сигнальная последовательность удаляется сигнальной пептидазой в просвете ЭР; ⑧ рибосома диссоциирует и снова готова к работе.

Гликозилирование играет ключевую роль в транспорте белка

В просвете ЭР вновь синтезированные белки модифицируются различным образом. После удаления сигнальных последовательностей происхо-

дит укладка полипептидных цепей с возможным образованием дисульфидных связей, а многие белки гликозилируются с образованием гликопротеинов. Во многих гликопротеинах связь с соответствующими олигосахаридами осуществляется через остатки Asn. Такие N-связанные олигосахариды достаточно разнообразны (гл. 7 в т. 1), но первая стадия гликозилирования белка всегда одинаковая. Сначала синтезируется олигосахаридное ядро из 14 остатков, которое затем переносится от донорной молекулы долихолфосфата на определенные остатки Asn в белке (рис. 27-39).

Трансфераза находится на люминальной поверхности ЭР и поэтому не может катализировать гликозилирование белков в цитоплазме. После переноса через мембрану олигосахариды в разных белках укорачиваются и модифицируются по-разному, но пентасахаридное ядро от исходного олигосахарида из 14 остатков сохраняется во всех N-олигосахаридах. Некоторые антибиотики блокируют одну или несколько стадий этого процесса, что позволило исследовать стадии гликозилирования белков. Лучшее из других изучен антибиотик **туникамидин**, который имитирует струк-

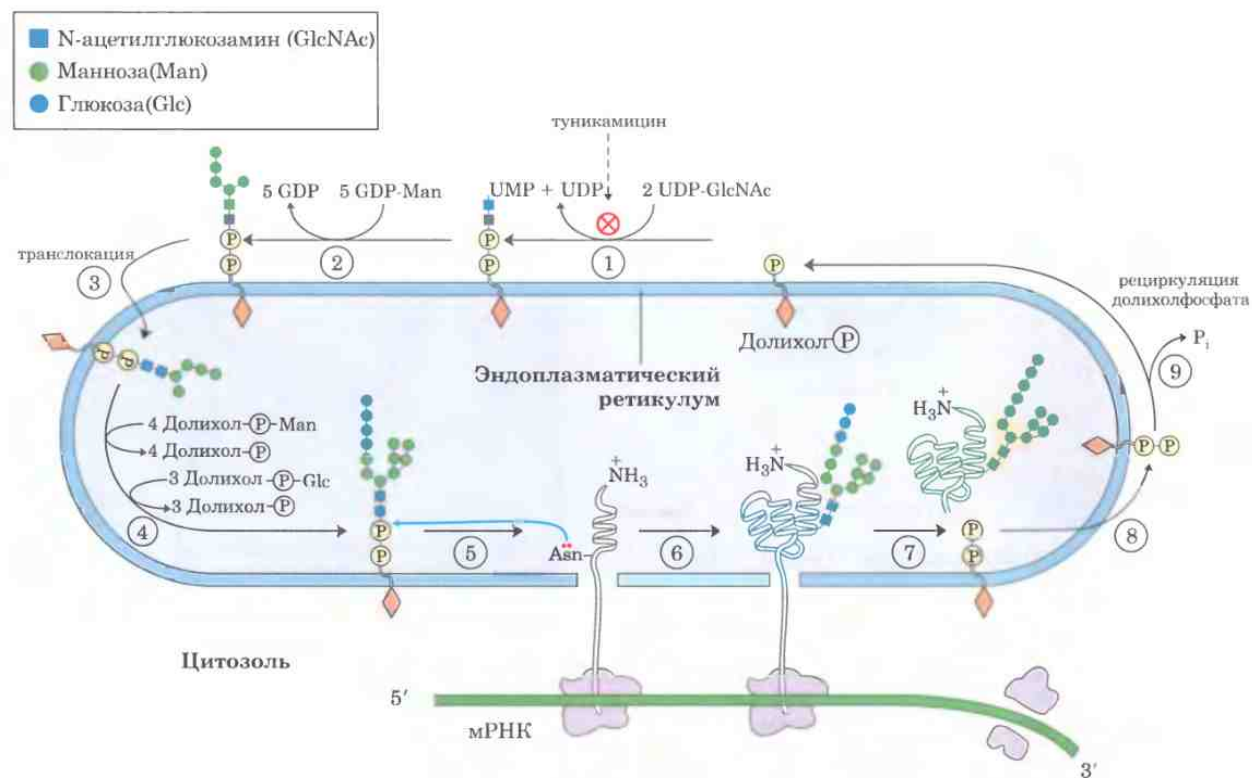
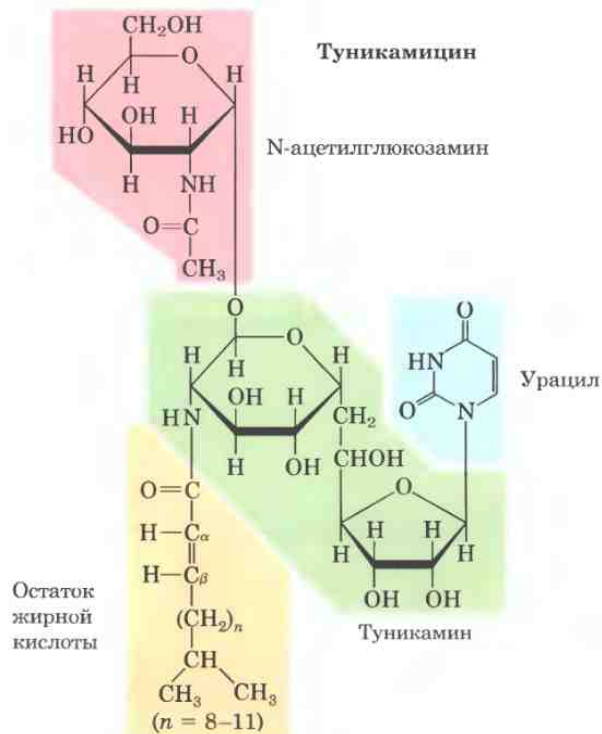


Рис. 27-39. Синтез олигосахаридного фрагмента гликопротеинов. Олигосахарид синтезируется путем последовательного присоединения моносахаридных единиц. ①, ② Первые стадии происходят на цитоплазматической поверхности ЭР. ③ В результате транслокации незавершенный олигосахарид переносится через мембрану (механизм не показан), и ④ окончание синтеза происходит в просвете ЭР. Дополнительные остатки маннозы и глюкозы для растущего олигосахарида поставляют производные долихолфосфата. На первой стадии образования N-гликопротеина ⑤, ⑥ олигосахарид переносится с долихолфосфата на остаток Asn белка в просвете ЭР. В дальнейшем олигосахаридная часть в зависимости от конкретного белка по-разному модифицируется в ЭР или в комплексе Гольджи. Однако пять сахарных остатков, изображенные на бежевом фоне (после стадии ⑦), сохраняются в структуре всех N-связанных олигосахаридов. ⑧ Высвободившийся долихолпирофосфат вновь переносится через мембрану, так что пирофосфат оказывается на цитоплазматической поверхности ЭР, где ⑨ гидролизуетс с регенерацией долихолфосфата.

туру UDP-N-ацетилглюкозамина и блокирует первую стадию (рис. 27-39, стадия ①). Некоторые белки в ЭР подвергаются О-гликозилированию, однако чаще О-гликозилирование осуществляется в комплексе Гольджи или в цитоплазме (для белков, которые не попадают в ЭР).



Далее модифицированные белки могут транспортироваться в различные клеточные отделы. Из ЭР в комплекс Гольджи белки поступают в транспортных пузырьках (везикулах) (рис. 27-40). В комплексе Гольджи олигосахариды присоединяются к некоторым белкам О-гликозидной связью, а N-связанные олигосахариды подвергаются дальнейшим модификациям. С помощью механизма, суть которого еще полностью не установлена, аппарат Гольджи сортирует белки и направляет их к месту назначения. Сортировка белков, предназначенных для секреции, и белков для плазматической мембраны или лизосом основана на структурных особенностях, которые не связаны с сигнальными последовательностями, поскольку последние удаляются в просвете ЭР.

Лучше всего изучен процесс сортировки гидролаз, направляющихся в лизосомы. При попадании гидролазы в комплекс Гольджи не-

кий еще не до конца исследованный элемент ее трехмерной структуры (иногда называемый сигнальным бугорком) распознается фосфотрансферазой, которая фосфорилирует определенные остатки маннозы в олигосахаридной части гликопротеина (рис. 27-41). Наличие одного или нескольких остатков маннозо-6-фосфата в олигосахаридной части гидролазы является сигналом для ее отправки в лизосому. Рецепторный белок в мембране комплекса Гольджи распознает маннозо-6-фосфат и связывает помеченную таким образом гидролазу. Везикулы, содержащие эти комплексы рецептора и гидролазы, отпочковываются от *транс*-стороны Гольджи и направляются к сортирующим везикулам. Здесь в условиях низкого значения pH и под действием фосфатазы, удаляющей фосфатные группы с



Рис. 27-40. Транспорт белков в лизосомы, плазматическую мембрану или во внеклеточное пространство. Из ЭР белки в транспортных везикулах направляются к *цис*-стороне комплекса Гольджи. Сортировка преимущественно происходит на *транс*-стороне комплекса Гольджи.

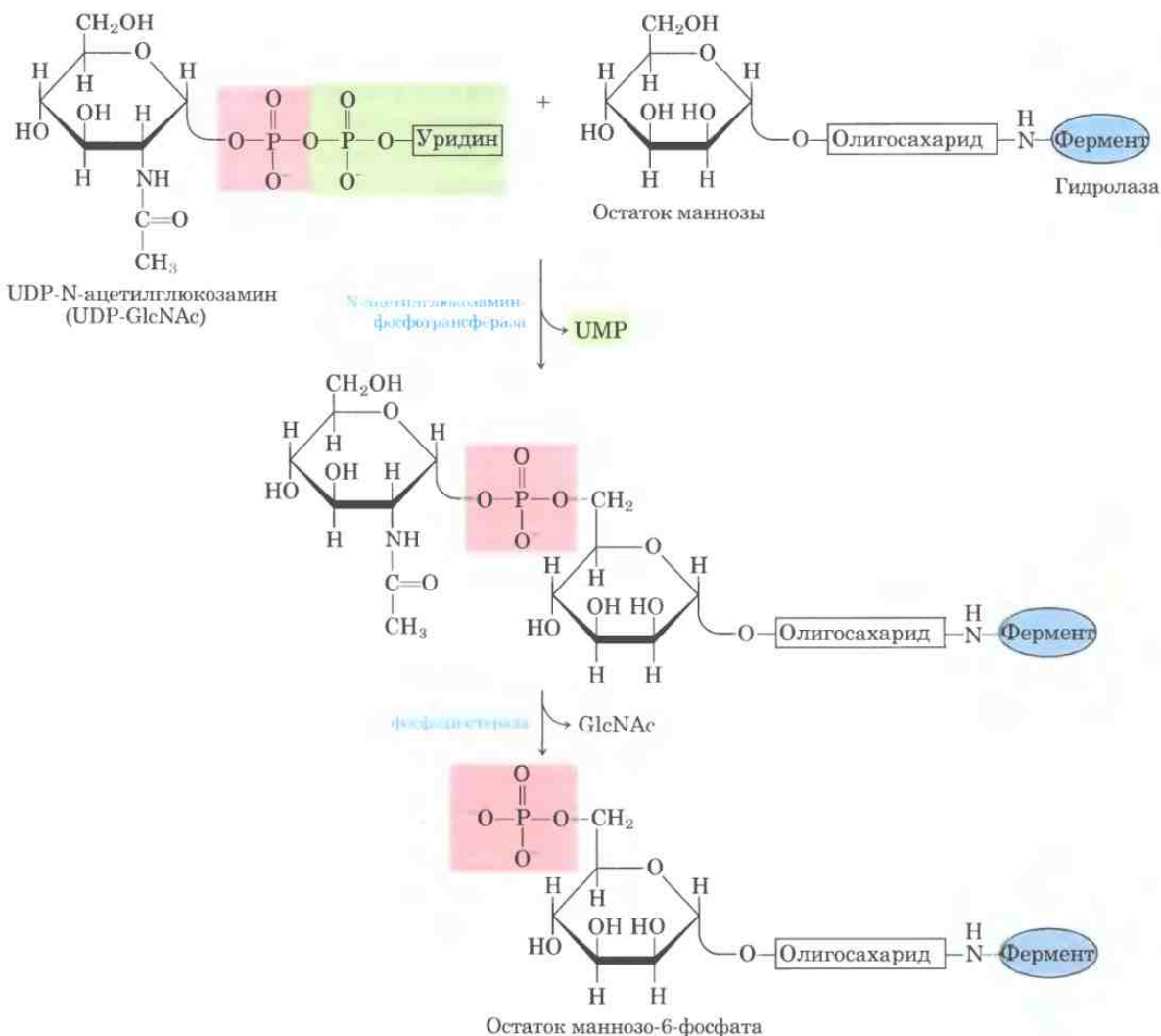


Рис. 27-41. Фосфорилирование остатков маннозы в ферментах, направляемых в лизосомы. N-ацетилглюкозаминфосфотрансфераза распознает некоторые неизвестные пока особенности структуры гидролаз, направляющихся в лизосомы.

остатков маннозо-6-фосфата, комплекс рецептора и гидролазы распадается. Затем рецептор возвращается к комплексу Гольджи, а везикулы с гидролазами отпочковываются от сортирующих везикул и направляются к лизосомам. В клетках, обработанных туникамицином (рис. 27-39, этап ①), гидролазы, которые должны оказаться в лизосомах, вместо этого секретируются, что подтверждает ключевую роль N-связанной олигосахаридной группы в доставке этих ферментов в лизосомы.

Доставка белков в митохондрии и хлоропласты также связана с наличием в этих белках

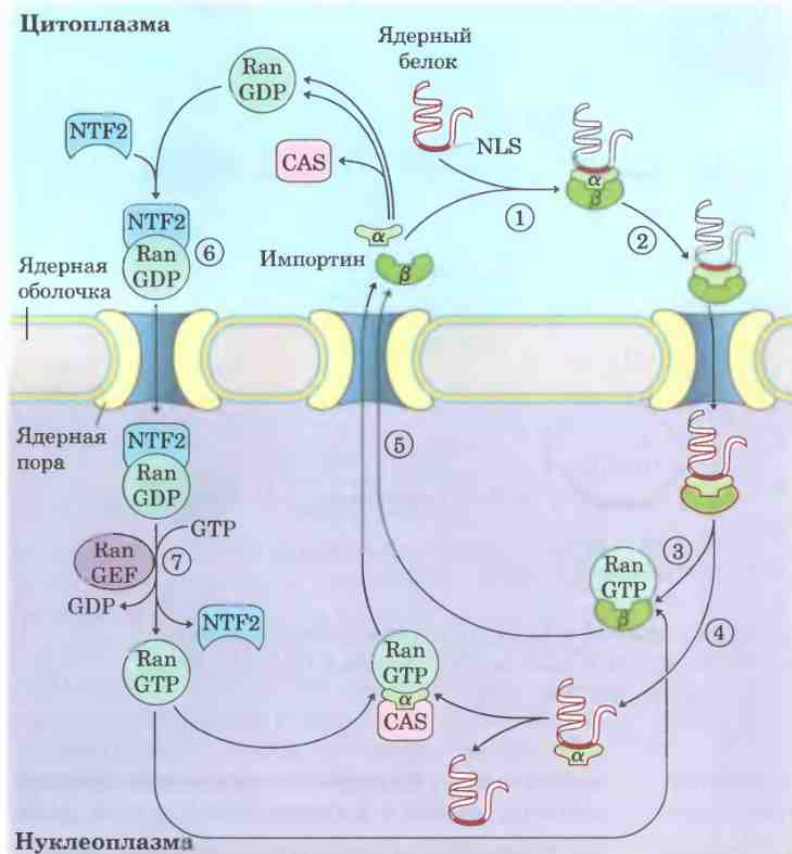
N-концевых сигнальных последовательностей. В митохондриях и хлоропластах есть своя ДНК, но большинство их белков закодировано в ядре и после синтеза доставляется в соответствующую органеллу. Однако в отличие от других путей направленного транспорта подготовка к транспортировке белков в митохондрии и хлоропласты начинается только *после* того, как белок-предшественник полностью синтезирован и отделен от рибосомы. Предшественники белков, предназначенных для митохондрий и хлоропластов, связываются с цитоплазматическими шаперонами и доставляются к рецепторам на внешней поверх-

ности органеллы. Затем с помощью специализированных систем транслокации белок транспортируется к своему месту в органелле, после чего сигнальная последовательность удаляется.

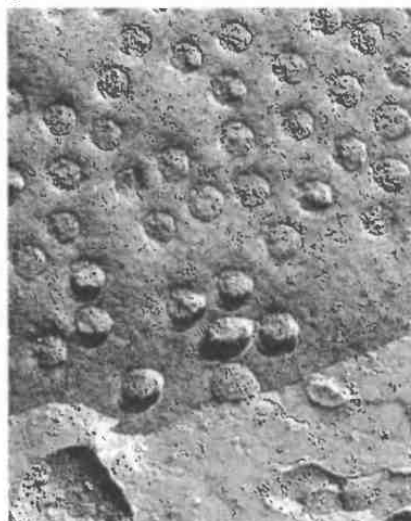
Сигнальные последовательности ядерных белков не отщепляются

Между ядром и цитоплазмой макромолекулы должны проходить через ядерные поры. Молекулы РНК, синтезированные в ядре, переносятся в цитоплазму. Рибосомные белки, синтезированные на рибосомах в цитоплазме, переносятся в

а



б



0,2 мкм

Рис. 27-42. Транспорт ядерных белков. а — ① Белок с сигналом ядерной локализации (NLS) связывается с комплексом импортинов α и β . ② Образующийся комплекс связывается с ядерной порой и переносится в ядро. ③ В ядре отщеплению импортина β способствует связывание Ran-GTP. ④ Импортин α связывается с Ran-GTP и CAS (*cellular apoptosis susceptibility protein*), высвобождая ядерный белок. ⑤ Импортины α и β и CAS выводятся из ядра и готовы к новому циклу переноса. Выход в цитоплазму сопровождается гидролизом связанного с Ran GTP. ⑥ Ran-GDP связывается с NTF2 и возвращается в ядро. ⑦ В ядре Ran-GEF облегчает обмен GDP на GTP, и Ran-GTP готов к переносу следующего комплекса импортинов с NLS-содержащим белком. б — микрофотография поверхности ядерной оболочки, полученная методом сканирующей электронной микроскопии; видны многочисленные ядерные поры.

ядро и собираются в 60S- и 40S-субъединицы рибосом в ядрышке; затем собранные субъединицы экспортируются назад в цитоплазму. Разнообразные ядерные белки (РНК- и ДНК-полимеразы, гистоны, топоизомеразы, белки-регуляторы экспрессии генов и т. п.) синтезируются в цитоплазме и переносятся в ядро. Этот путь управляется сложной системой молекулярных сигналов и транспортных белков, действие которых постепенно стало более понятно.

У большинства многоклеточных эукариот ядерная оболочка разрывается при каждом клеточном делении, а по окончании деления восста-

навливаются, при этом рассеянные в цитоплазме ядерные белки снова импортируются в ядро. Ввиду необходимости возвращения в ядро сигнальная последовательность, которая направляет белок в ядро, — **сигнал ядерной локализации** (NLS от англ. *nuclear localization sequence*), не удаляется после того, как белок достигает своего места назначения. В отличие от других сигнальных последовательностей, NLS может находиться почти в любом месте первичной последовательности белка. Последовательности NLS могут существенно различаться, но многие состоят из четырех–восьми аминокислотных остатков и содержат последовательность из нескольких остатков основных аминокислот (Arg или Lys).

Транспорт в ядро опосредован несколькими белками, курсирующими между цитоплазмой и ядром (рис. 27-42), включая импортины α и β и небольшую GTPазу Ran (*Ras-related nuclear protein*). Гетеродимер импортинов α и β действует в качестве растворимого рецептора транспортируемых в ядро белков, причем α -субъединица служит для связывания NLS-содержащих белков в цитоплазме. Комплекс NLS-содержащего белка и импортина подходит к ядерной поре и проходит через нее, причем это сопровождается затра-

той энергии. В ядре импортин β связывается с GTPазой Ran и высвобождает доставленный белок. Импортин α связывается с Ran и CAS (*cellular apoptosis susceptibility protein*) и отщепляется от NLS-содержащего белка. Затем импортины α и β в комплексах с Ran и CAS экспортируются из ядра. В цитоплазме белок Ran гидролизует GTP, высвобождая импортины, которые могут начинать новый цикл переноса. Сам Ran также переносится обратно в ядро за счет связывания Ran-GDP с ядерным транспортным фактором 2 (NTF2). В ядре связанный с Ran GDP под действием фактора обмена гуанозиновых нуклеотидов RanGEF замещается на GTP (см. доп. 12-2 в т. 1).

Бактерии тоже используют сигнальные последовательности для транспорта белков

У бактерий белки направляются во внутренние или внешние мембраны, в периплазматическое пространство или во внеклеточную среду. Бактериальные белки имеют N-концевые сигнальные последовательности (рис. 27-43), во многом напоминающие аналогичные последовательности эукариотических белков, направляющихся в ЭР, митохондрии и хлоропласты.

Белки внутренней мембраны

Основной белок вирусной оболочки фага fd Met Lys Lys Ser Leu Val Leu Lys Ala Ser Val Ala Val Ala Thr Leu Val Pro Met Leu Ser Phe Ala Ala Glu — место расщепления

Минорный белок вирусной оболочки фага fd Met Lys Lys Leu Leu Phe Ala Ile Pro Leu Val Val Pro Phe Tyr Ser His Ser Ala Glu —

Белки периплазматического пространства

Щелочная фосфатаза Met Lys Gln Ser Thr Ile Ala Leu Ala Leu Leu Pro Leu Leu Phe Thr Pro Val Thr Lys Ala Arg Thr —

Лейцин-специфичный связывающий белок Met Lys Ala Asn Ala Lys Thr Ile Ile Ala Gly Met Ile Ala Leu Ala Ile Ser His Thr Ala Met Ala Asp Asp —

β -Лактамаза плазмиды pBR322 Met Ser Ile Gln His Phe Arg Val Ala Leu Ile Pro Phe Phe Ala Ala Phe Cys Leu Pro Val Phe Ala His Pro —

Белки внешней мембраны

Липопротейн Met Lys Ala Thr Lys Leu Val Leu Gly Ala Val Ile Leu Gly Ser Thr Leu Leu Ala Gly Cys Ser —

LamB Leu Arg Lys Leu Pro Leu Ala Val Ala Val Ala Ala Gly Val Met Ser Ala Gln Ala Met Ala Val Asp —

OmpA Met Met Ile Thr Met Lys Lys Thr Ala Ile Ala Ile Ala Val Ala Leu Ala Gly Phe Ala Thr Val Ala Gln Ala Ala Pro —

Рис. 27-43. Сигнальные последовательности, направляющие бактериальные белки в разные места локализации. Голубым цветом выделены основные аминокислоты вблизи N-конца, желтым цветом обозначены гидрофобные аминокислоты в центральной части сигнальных пептидов. Сайты расщепления сигнальных последовательностей показаны красными стрелками. Обратите внимание, что белки оболочки и ДНК фага fd собираются в фаговые частицы на внутренней мембране бактериальной клетки (см. рис. 1-6 в т. 1). OmpA — белок внешней мембраны; LamB — рецепторный белок на поверхности клетки бактериофага λ .

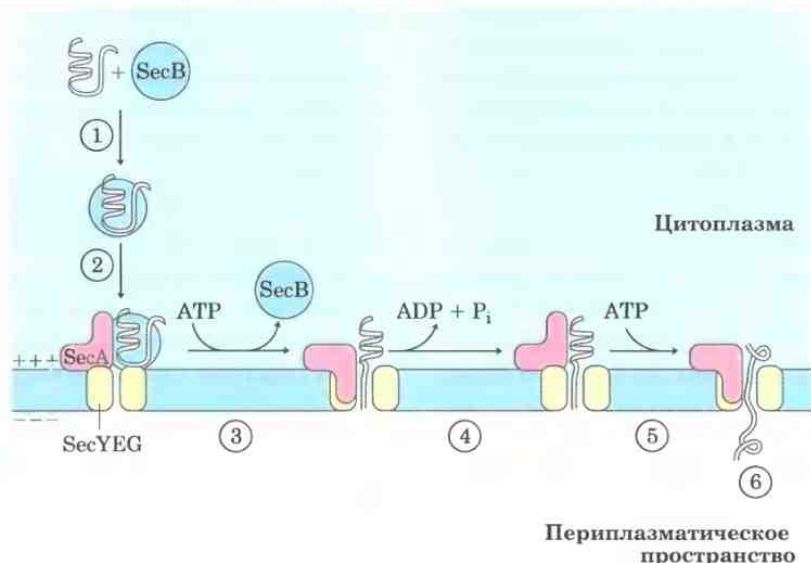


Рис. 27-44. Модель экспорта белка у бактерий. ① После завершения трансляции полипептид связывается в цитоплазме с шапероном SecB, который ② доставляет его к белку SecA, связанному с комплексом транслокации (SecYEG) в мембране бактериальной клетки. ③ SecB высвобождается, SecA встраивается в мембрану, проталкивая через комплекс транслокации примерно 20 аминокислотных остатков белка. ④ Гидролиз ATP белком SecA обеспечивает энергию для конформационных изменений, которые позволяют SecA высвобождаться из мембраны, оставив полипептид в периплазматическом пространстве. ⑤ SecA связывает другую молекулу ATP и проталкивает через комплекс транслокации следующий фрагмент белка из 20 аминокислотных остатков. Стадии ④ и ⑤ повторяются до тех пор, пока ⑥ весь белок не пройдет через мембрану и не высвободится в периплазму. Электрохимический потенциал на мембране (обозначенный знаками «+» и «-») является дополнительной движущей силой, способствующей транслокации белка.

В большинстве случаев экспорт белков из клеток *E. coli* осуществляется по механизму, изображенному на рис. 27-44. После трансляции предназначенный для экспорта белок сворачивается очень медленно, поскольку этому препятствует N-концевая сигнальная последовательность. Растворимый шаперон SecB связывается с сигнальной последовательностью или с другими участками частично свернутого белка. В таком виде белок доставляется к белку SecA внутренней мембраны. Белок SecA служит одновременно и рецептором, и транслоцирующей АТРАЗой. Освободившись от SecB, связанный с SecA белок включается в комплекс транслокации в мембране, состоящий из SecY, SecE и SecG, и проходит мембрану через комплекс SecYEG, длина которого составляет примерно 20 аминокислотных остатков. На каждой

стадии происходит гидролиз ATP, катализируемый SecA.

Таким образом, экспорт белка через мембрану опосредует белок SecA, локализованный на внутренней поверхности мембраны, а не белок периплазматического пространства. Этот механизм может быть обусловлен просто тем, что транслоцирующая АТРаза находится там, где есть ATP. Трансмембранный электрохимический потенциал также может способствовать транслокации белка (в этом вопросе еще много неясного).

Большинство бактериальных белков покидает клетку именно этим путем, но известны и такие белки, которые экспортируются по другому механизму, где принимают участие сигнальные последовательности и рецепторные белки, гомологичные компонентам белка SRP и его рецепторам у эукариот (рис. 27-38).

Белки проникают в клетки путем опосредованного рецепторами эндоцитоза

Некоторые белки поступают в клетки из окружающей среды; у эукариот это липопротеины низкой плотности (ЛПНП), переносчик железа трансферрин, пептидные гормоны и циркулирующие белки, направляющиеся на расщепление. Существует несколько механизмов проникновения белков в клетку (рис. 27-45). В одном из них белки связываются с рецепторами в углублениях мембраны, называемых **окаймленными пузырьками**, где содержится значительно больше рецепторов эндоцитоза, чем других белков клеточной поверхности. Эти углубления со стороны цитоплазмы покрыты сеткой из белка **клатрина**, который формирует замкнутые многогранные структуры (рис. 27-46). Клатриновая сеть расширяется по мере увеличения числа рецепторов, связанных с белками-мишенями, пока полностью окруженная мембраной везикула не отпочковывается от плазматической мембраны с помощью крупной ГТФазы **динамина** и выходит в цитоплазму. Клатрин быстро удаляется ферментативным путем, и везикула сливается с эндосомой. АТФазная активность в мембранах эндосом понижает уровень pH, что облегчает

диссоциацию комплексов рецепторов с белками-мишенями. В похожем процессе кавеолин вызывает инвагинацию участков мембраны, содержащих липидные рафты, связанные с определенными типами рецепторов (см. рис. 11-21 в т. 1). Затем образующиеся везикулы сливаются с содержащими кавеолин внутренними структурами — кавесомами, в которых поглощенные вещества сортируются и перенаправляются к другим участкам клетки, а кавеолины готовятся к возвращению к поверхности мембраны. Кроме того, существуют пути, не связанные с действием клатрина или кавеолина; в каких-то из них участвует динамин, а в каких-то нет.

Далее импортируемые белки и их рецепторы претерпевают различные превращения, и их дальнейшая судьба зависит от типа клеток и типа белков. Трансферрин и его рецептор в конечном итоге используются вновь. Некоторые гормоны, факторы роста и иммунные комплексы после индукции соответствующего клеточного ответа разрушаются вместе со своими рецепторами. Липопротеины низкой плотности разрушаются после того, как связанный холестерин доставляется к месту назначения, но рецепторы ЛПНП используются многократно (см. рис. 21-42 в т. 2).

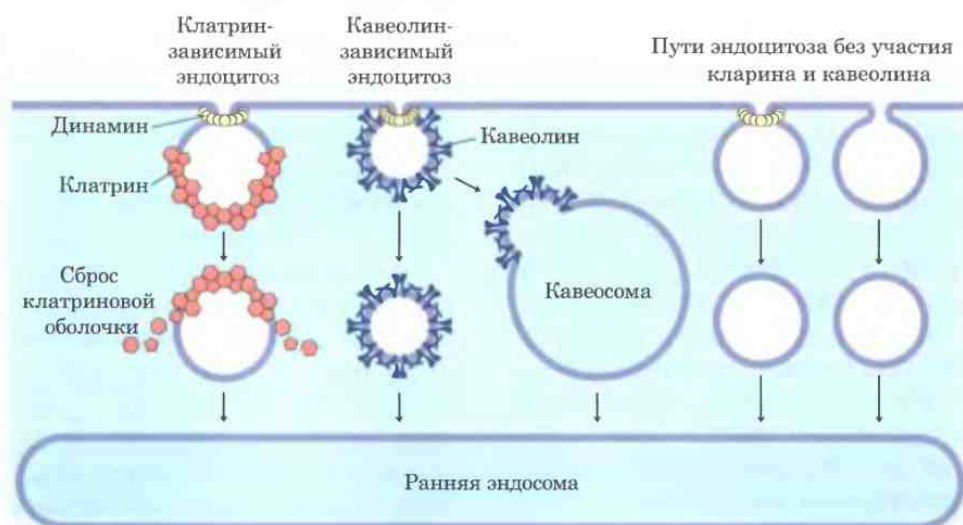


Рис. 27-45. Пути эндоцитоза в эукариотических клетках. В путях, зависимых от клатрина или кавеолина, везикулы отделяются от плазматической мембраны с помощью ГТФазы динамина. В других путях не участвуют ни кавеолин, ни клатрин, а динамин может быть задействован или нет.

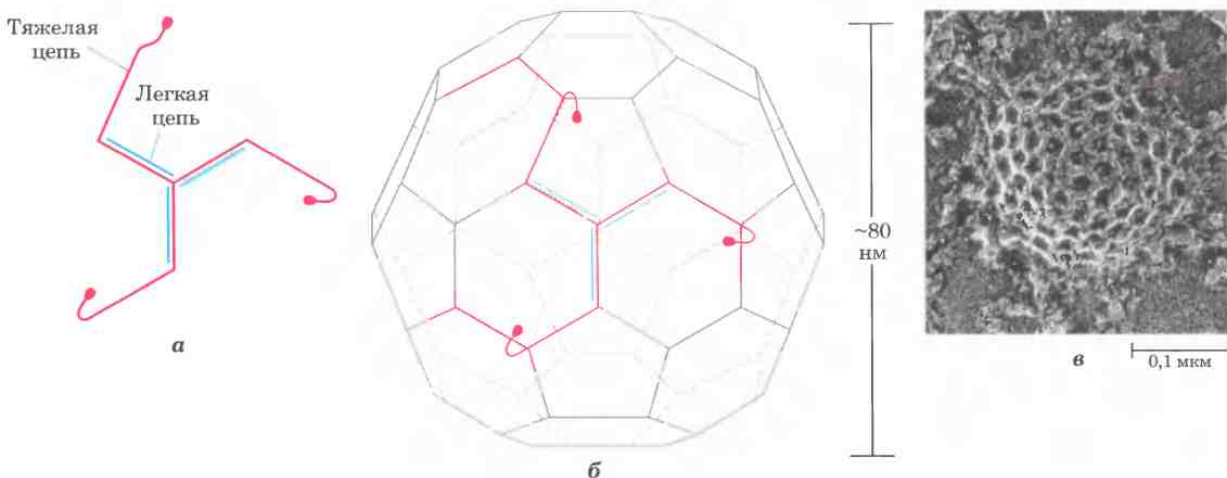


Рис. 27-46. Клатрин. *а* — три легкие (L) цепи ($M_r = 35\,000$) и три тяжелые (H) цепи ($M_r = 180\,000$) образуют единицу клатрина (HL)₃, имеющую трехлучевую структуру, называемую трискелионом. *б* — трискелионы собраны в многогранную сетчатую структуру. *в* — электронная микрофотография окаймленного пузырька на цитоплазматической поверхности плазматической мембраны фибробласта.

Расщепление белков во всех клетках осуществляется специализированными системами

Расщепление белков препятствует накоплению аномальных или ненужных белков и позволяет реутилизировать аминокислоты. Время полужизни эукариотических белков составляет от 30 секунд до многих суток. Оборот большинства белков происходит достаточно быстро по сравнению с продолжительностью жизни клетки, хотя некоторые белки (например, гемоглобин) могут сохраняться на протяжении всего времени существования клетки (например, эритроциты живут около 110 суток). Быстро разрушаются дефектные белки, которые были неправильно собраны или получили повреждения в процессе функционирования, а также регуляторные ферменты, катализирующие ключевые реакции метаболических путей.

Дефектные белки и белки с наиболее коротким временем полужизни обычно как в бактериальных, так и в эукариотических клетках разрушаются с помощью селективных АТР-зависимых цитоплазматических систем. Другая система, которая у позвоночных действует в лизосомах, высвобождает аминокислоты из мембранных

белков, внеклеточных белков и белков с большим временем полужизни.

У *E. coli* многие белки расщепляются АТР-зависимой протеазой Lon (название происходит от «long form» — «длинные формы» белков, которые появляются в клетке только в отсутствие данной протеазы). Протеаза Lon активируется в присутствии дефектных белков или белков с коротким временем полужизни; на расщепление каждой пептидной связи расходуются две молекулы АТР. Детали этого процесса пока установить не удалось. Когда белок расщеплен на мелкие неактивные пептиды, завершают процесс другие АТР-независимые протеазы.

АТР-зависимый путь деградации белков в эукариотических клетках несколько отличается и зависит от действия белка **убиквитина**. Убиквитин (76 аминокислотных остатков) является одним из самых высококонсервативных белков, он практически идентичен у столь разных организмов, как дрожжи и человек. Убиквитин ковалентно связывается с белками, предназначенными для расщепления по АТР-зависимому пути с участием трех разных ферментов (Е1, Е2 и Е3 на [рис. 27-47](#)).

Связанные с убиквитином белки расщепляются крупным белковым комплексом, называемым **26S-протеасомой** ($M_r = 2,5 \cdot 10^6$) ([рис. 27-48](#)).

Протеасома эукариот содержит как минимум 32 разные субъединицы, представленные в двух копиях, причем большинство этих субъединиц высококонсервативно у многих видов, от дрожжей до человека. Протеасома состоит из комплексов двух

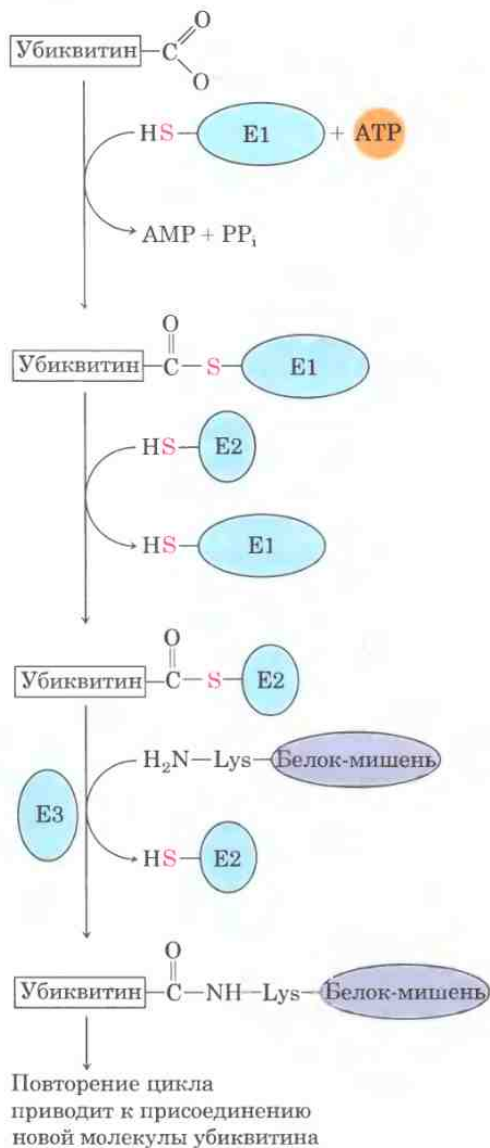


Рис. 27-47. Трехстадийный процесс присоединения убиквитина к белку. Процесс происходит через образование двух разных промежуточных комплексов убиквитина с ферментами. В конечном итоге свободная карбоксильная группа С-концевого остатка Gly убиквитина через амидную (изопептидную) связь соединяется с ϵ -аминогруппой остатка Lys белка-мишени. При повторении цикла образуется полиубиквитин — ковалентный полимер из субъединиц убиквитина, который направляет связанный эукариотический белок к месту расщепления.

типов: центральной частицы в форме бочонка и регуляторных частиц на обоих ее концах. Центральная 20S-частица состоит из четырех колец; внешние кольца сформированы из семи α -субъединиц, а внутренние кольца — из семи β -субъединиц. Три из семи субъединиц каждого β -кольца обладают протеазной активностью, причем все они различаются по субстратной специфичности. Кольца центральной частицы формируют структуру в форме бочонка, в котором происходит расщепление белков-мишеней. Регуляторные 19S-частицы на концах бочонка содержат по 18 субъединиц, включая те, которые распознают и связывают убиквитинированные белки. Шесть субъединиц являются AAA+ АТРазами (см. гл. 25), которые, вероятно, раскручивают убиквитинированные белки и направляют развернутые полипептиды в центральную частицу для разрушения. Кроме того, 19S-частица отщепляет от разрушаемых белков убиквитин. В большинстве клеток есть дополнительные регуляторные комплексы, способные заменить 19S-частицу. Эти альтернативные регуляторы не гидролизуют АТФ и не связывают убиквитин, однако они необходимы для расщепления некоторых клеточных белков. В зависимости от внутриклеточных условий 26S-протеасоме могут помогать различные регуляторные комплексы.

Мы пока не понимаем всех сигналов, индуцирующих присоединение убиквитина, но один простой сигнал был обнаружен. Первая аминокислота, которая остается после удаления с N-конца остатка Met или после другого посттрансляционного протеолитического процессинга N-конца, определяет время жизни многих белков (табл. 27-9). Эти N-концевые сигналы не изменились за миллиарды лет эволюции — они одинаковые в бактериальных системах расщепления белков и в системе убиквитинирования у человека. Были обнаружены и более сложные сигналы (см. рис. 12-46, т. 1).

Убиквитин-зависимый протеолиз одинаково важен как для регуляции клеточных процессов, так и для уничтожения дефектных белков. Многие белки, которые нужны только на одной стадии клеточного цикла эукариотических клеток, после выполнения своей функции быстро разрушаются по убиквитин-зависимому пути. В регуляции клеточного цикла очень важную роль играет убиквитин-зависимое разрушение циклина (рис. 12-46 в т. 1). Компоненты E2 и E3,

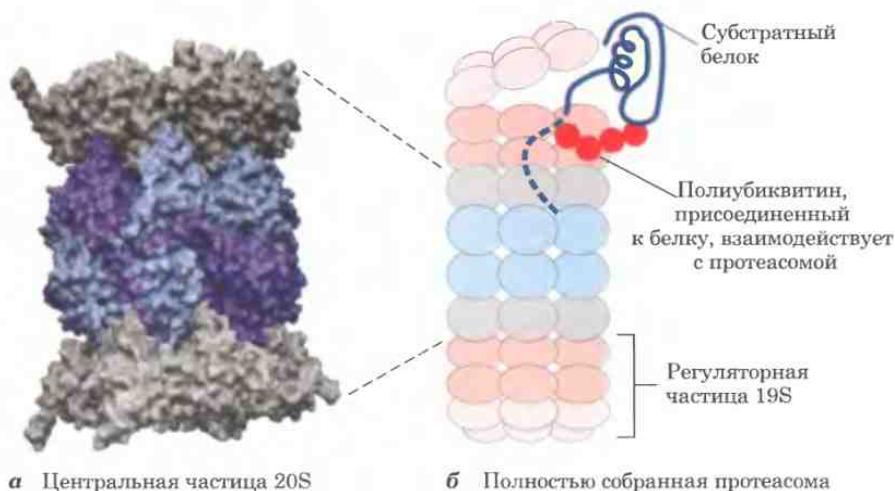


Рис. 27-48. Трехмерная структура эукариотической протеасомы. У всех эукариот 26S-протеасома высококонсервативна. Она состоит из центральной 20S-частицы и двух регуляторных 19S-частиц. *а* — Центральная частица (PDB ID 1IRU) состоит из четырех колец, образующих структуру в форме бочонка. Два внутренних кольца содержат по семь разных β -субъединиц (голубые), три из которых обладают протеазной активностью (темно-синие). Два внешних кольца состоят из семи разных α -субъединиц (серые). *б* — Центральный бочонок с двух сторон закрыт регуляторными частицами. Центральная часть изображена теми же цветами, что и на рис. *а*. Основание и вершина каждой регуляторной частицы изображены разными оттенками розового цвета. Регуляторная частица раскручивает убиквитинированные белки (синяя спираль) и проталкивает их в бочонок.

участвующие в реакциях убиквитинирования (рис. 27-47), представляют два крупных семейства белков. Ферменты E2 и E3 проявляют разное сродство к белкам-мишеням и регулируют таким образом разные клеточные процессы. Некоторые ферменты E2 и E3 локализованы в строго определенных клеточных компартментах, что отражает их специализацию.

 Неудивительно, что нарушения механизма убиквитинирования приводят к различным заболеваниям. Неспособность разрушать определенные белки (продукты онкогенов), которые активируют деление клеток, может привести к развитию опухолей, но и слишком быстрое разрушение белков, которые действуют в качестве опухолевых супрессоров, может вызвать тот же эффект. Предполагается, что неэффективное или очень быстрое разрушение клеточных белков обуславливает развитие болезней почек, астму, нейродегенеративные расстройства, такие как паркинсонизм и болезнь Альцгеймера (при этих болезнях обнаружены характерные белковые

Таблица 27-9 Связь между временем жизни белка и его N-концевым остатком	
N-концевой остаток	Время полужизни*
Стабилизирующий	
Met, Gly, Ala, Ser, Thr, Val	> 20 ч
Дестабилизирующий	
Ile, Gln	~ 30 мин
Tyr, Glu	~ 10 мин
Pro	~ 7 мин
Leu, Phe, Asp, Lys	~ 3 мин
Arg	~ 2 мин

Источник. По Bachmair A., Finley D., Varshavsky A. (1986) In vivo half-life of a protein is a function of its amino-terminal residue. *Science* **234**, 179–186, с изм.

* Время полужизни определяли для дрожжевой β -галактозидазы, модифицированной таким образом, что в каждом эксперименте фермент имел другой N-концевой остаток. Время полужизни разных белков и в разных организмах может быть различным, но общая тенденция, вероятно, прослеживается повсеместно.

структуры в нейронах), кистозный фиброз (возникает в результате слишком быстрого разрушения и нарушения функции хлорных каналов; см. доп. 11-3 в т. 1), синдрома Лиддла (натриевые каналы в почках не разрушаются, что приводит к избыточному всасыванию Na^+ и раннему развитию гипертонии) и многие другие заболевания. При лечении некоторых из этих болезней можно использовать ингибирующую активность протеасом. При изменении метаболизма разрушение белков играет такую же важную роль для выживания клетки, как и их синтез. Еще многое предстоит узнать об этих метаболических путях. ■

Краткое содержание раздела 27.3 ТРАНСПОРТ И РАСЩЕПЛЕНИЕ БЕЛКОВ

- После синтеза многие белки направляются к месту своей локализации в клетке. Один из механизмов направленной доставки белка основан на узнавании сигнального пептида, чаще всего расположенного на N-конце вновь синтезированного белка.
- В клетках эукариот один класс сигнальных последовательностей распознается сигналь-распознающей частицей (SRP), которая связывает сигнальную последовательность, как только она появляется на рибосоме, и переносит целую рибосому и незаконченный полипептид в ЭР. Полипептиды с такими сигнальными последовательностями по мере синтеза перемещаются в просвет ЭР, где они модифицируются и отсюда переносятся в комплекс Гольджи. Далее белки сортируются и направляются в лизосомы, плазматическую мембрану или транспортные везикулы.
- Эукариотические белки, доставляемые в митохондрии и хлоропласты, и секретируемые белки бактерий также имеют N-концевую сигнальную последовательность.
- Белки, предназначенные для транспорта в ядро, содержат внутреннюю сигнальную последовательность, которая в отличие от других сигнальных последовательностей не отщепляется после того, как белок доставляется к месту назначения.

- Некоторые клетки эукариот импортируют белки путем опосредованного рецепторами эндоцитоза.
- Все клетки со временем разрушают белки, используя специализированные системы протеолиза. Дефектные белки и белки с коротким временем полужизни обычно разрушаются с помощью АТР-зависимой системы. В клетках эукариот белки сначала связываются с высококонсервативным белком убиквитинном. Убиквитин-зависимый протеолиз осуществляется протеасомами, которые тоже высококонсервативны. Этот механизм играет очень важную роль в регуляции многих клеточных процессов.

Ключевые термины

Термины, выделенные жирным шрифтом, объясняются в глоссарии.

аминоацил-тРНК 166	посттрансляционная модификация 206
аминоацил-тРНК-синтетаза 166	протеасома 220
аминоацильный (А) сайт 196	пуромидин 208
антикодон 173	рамка считывания 167
динамин 219	редактирование РНК 176
дифтерийный токсин 209	рицин 209
инициаторный кодон 170	сайт выхода (Е) 196
инициаторный комплекс 198	сдвиг рамки считывания 175
инициация 179, 196	сигнал ядерной локализации (NLS) 217
клатрин 219	сигнал-распознающая частица (SRP) 211
кодон 167	сигнальная последовательность 206 210
комплекс транслокации 212	стоп-кодны 170
нонсенс-супрессия 203	стрептомицин 209
окаймленные пузырьки 219	терминация 180, 202
открытая рамка считывания (ОРС) 171	тетрациклины 209
пептидилтрансфераза 200	транслокация 200
пептидильный (Р) сайт 196	трансляция 167
полисома 204	туникамицин 213
последовательность Шайна-Дальгарно 196	убиквитин 220
	факторы терминции 202
	факторы элонгации 199
	хлорамфеникол 209
	циклогексимид 209
	элонгация 180, 199

Дополнительная литература для дальнейшего изучения

Генетический код

Ambrogelly, A., Palioura, S., & Söll, D. (2007) Natural expansion of the genetic code. *Nat. Chem. Biol.* **3**, 29–35.

Blanc, V. & Davidson, N. O. (2003) C-to-U RNA editing: mechanisms leading to genetic diversity. *J. Biol. Chem.* **278**, 1395–1398.

Crick, F. H. C. (1966) The genetic code: III. *Sci. Am.* **215** (October), 55–62.

Обзор о структуре генетического кода, написанный в то время, когда генетический код еще только начал расшифровываться.

Hohn, M. J., Park, H. S., O'Donoghue, P., Schnitzbauer, M., & Söll, D. (2006) Emergence of the universal genetic code imprinted in an RNA record. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* **103**, 18 095–18 100.

Klobutcher, L. A. & Farabaugh, P. J. (2002) Shifty ciliates: frequent programmed translational frameshifting in Euplotids. *Cell* **111**, 763–766.

Levanon, K., Eisenberg E., Rechavi G., & Levanon, E. Y. (2005) Letter from the editor: adenosine-to-inosine RNA editing in Alu repeats in the human genome. *EMBO Rep.* **6**, 831–835.

Maas, S., Rich, A., & Nishikura, K. (2003) A-to-I RNA editing: recent news and residual mysteries. *J. Biol. Chem.* **278**, 1391–1394.

Neeman, Y., Dahary, D., & Nishikura, K. (2006) Editor meets silencer: crosstalk between RNA editing and RNA interference. *Nat. Rev. Mol. Cell Biol.* **7**, 919–931.

Nirenberg, M. (2004) Historical review: deciphering the genetic code – a personal account. *Trends Biochem. Sci.* **29**, 46–54.

Schimmel, P. & Beebe, K. (2004) Molecular biology – genetic code seizes pyrrolysine. *Nature* **431**, 257–258.

Stadtman, T. C. (1996) Selenocysteine. *Annu. Rev. Biochem.* **65**, 83–100.

Vetsigian, K., Woese, C., & Goldenfeld, N. (2006) Collective evolution and the genetic code. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* **103**, 10 696–10 701.

Xie, J. M. & Schultz, P. G. (2006) Innovation: a chemical toolkit for proteins – an expanded genetic code. *Nat. Rev. Mol. Cell Biol.* **7**, 775–782.

Yanofsky, C. (2007) Establishing the triplet nature of the genetic code. *Cell* **128**, 815–818.

Yarus, M., Caporaso, J. G., & Knight, R. (2005) Origins of the genetic code: the escaped triplet theory. *Annu. Rev. Biochem.* **74**, 179–198.

Синтез белка

Ban, N., Nissen, P., Hansen, J., Moore, P. B., & Steitz, T. A. (2000) The complete atomic structure of the large ribosomal subunit at 2.4 angstrom resolution. *Science* **289**, 905–920.

Первое описание структуры с высокой степенью разрешения большей субъединицы рибосомы.

Björk, G. R., Ericson, J. U., Gustafsson, C. E. D., Hagerwall, T. G., Jönsson, Y. H., & Wikström, P. M. (1987) Transfer RNA modification. *Annu. Rev. Biochem.* **56**, 263–288.

Chapeville, F., Lipmann, F., von Ehrenstein, G., Weisblum, B., Ray, W. J., Jr., & Benzer, S. (1962) On the role of soluble ribonucleic acid in coding for amino acids. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* **48**, 1086–1092.

Классические эксперименты, подтверждающие правоту выдвинутой Криком адаптерной гипотезы и показывающие, что аминокислоты не проверяются после того, как они связываются с молекулами тРНК.

Dintzis, H. M. (1961) Assembly of the peptide chains of hemoglobin. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* **47**, 247–261.

Классический эксперимент, подтверждающий, что синтез белка начинается с N-конца.

Giege, R., Sissler, M., & Florentz, C. (1998) Universal rules and idiosyncratic features in tRNA identity. *Nucleic Acid Res.* **26**, 5017–5035.

Gray, N. K. & Wickens, M. (1998) Control of translation initiation in animals. *Annu. Rev. Cell Dev. Biol.* **14**, 399–458.

Ibba, M. & Söll, D. (2000) Aminoacyl-tRNA synthesis. *Annu. Rev. Biochem.* **69**, 617–650.

Kapp, L. D. & Lorsch, J. R. (2004) The molecular mechanics of eukaryotic translation. *Annu. Rev. Biochem.* **73**, 657–704.

Korostelev, A., Trakhanov, S., Laurberg, M., & Noller, H. F. (2006) Crystal structure of a 70S ribosome-tRNA complex reveals functional interactions and rearrangements. *Cell* **126**, 1065–1077.

Moore, P. B. & Steitz, T. A. (2003) The structural basis of large ribosomal subunit function. *Annu. Rev. Biochem.* **72**, 813–850.

Peske, F., Rodnina, M. V., & Wintermeyer, W. (2005) Sequence of steps in ribosome recycling as defined by kinetic analysis. *Mol. Cell* **18**, 403–412.

Poehlsgaard, J. & Douthwaite, S. (2005) The bacterial ribosome as a target for antibiotics. *Nat. Rev. Microbiol.* **3**, 870–881.

Rodnina, M. V. & Wintermeyer, W. (2001) Fidelity of aminoacyl-tRNA selection on the ribosome: kinetic and structural mechanisms. *Annu. Rev. Biochem.* **70**, 415–435.

Woese, C. R., Olsen, G. J., Ibba, M., & Söll, D. (2000) Aminoacyl-tRNA synthetases, the genetic code, and the evolutionary process. *Microbiol. Mol. Biol. Rev.* **64**, 202–236.

Транспорт и секреция белка

- DeMartino, G. N. & Gillette, T. G.** (2007) Proteasomes: machines for all reasons. *Cell* **129**, 659–662.
- Hartmann-Petersen, R., Seeger, M., & Gordon C.** (2003) Transferring substrates to the 26S proteasome. *Trends Biochem. Sci.* **28**, 26–31.
- Higgins, M. K. & McMahon, H. T.** (2002) Snap-shots of clathrin-mediated endocytosis. *Trends Biochem. Sci.* **27**, 257–263.
- Liu, C. W., Li, X. H., Thompson, D., Wooding, K., Chang, T., Tang, Z., Yu, H., Thomas, P. J., & DeMartino, G. N.** (2006) ATP binding and ATP hydrolysis play distinct roles in the function of 26S proteasome. *Mol. Cell* **24**, 39–50.
- Luzio, J. P., Pryor, P. R., & Bright, N. A.** (2007) Lysosomes: fusion and function. *Nat. Rev. Mol. Cell Biol.* **8**, 622–632.
- Mayor, S. & Pagano, R. E.** (2007) Pathways of clathrin-independent endocytosis. *Nat. Rev. Mol. Cell Biol.* **8**, 603–612.
- Neupert, W.** (1997) Protein import into mitochondria. *Annu. Rev. Biochem.* **66**, 863–917.
- Pickart, C. M. & Cohen, R. E.** (2004) Proteasomes and their kin: proteases in the machine age. *Nat. Rev. Mol. Cell Biol.* **5**, 177–187.
- Royle, S. J.** (2006) The cellular functions of clathrin. *Cell. Mol. Life Sci.* **63**, 1823–1832.
- Schatz, G. & Dobberstein, B.** (1996) Common principles of protein translocation across membranes. *Science* **271**, 1519–1525.
- Schekman, R.** (2007) How sterols regulate protein sorting and traffic. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* **104**, 6496–6497.
- Smalle, J. & Vierstra, R. D.** (2004) The ubiquitin 26S proteasome proteolytic pathway. *Annu. Rev. Plant Biol.* **55**, 555–590.
- Stewart, M.** (2007) Molecular mechanism of the nuclear protein import cycle. *Nat. Rev. Mol. Cell Biol.* **8**, 195–208.

Вопросы и задачи

1. Трансляция матричной РНК. Определите аминокислотные последовательности пептидов, синтезируемых рибосомами на основе последовательностей мРНК, при условии, что рамка считывания начинается с первых трех оснований в каждой последовательности.

- а) GGUCAGUCGCUCCUGAUU
- б) UUGGAUGCGCCAAUAAUUGCU
- в) CAUGAUGCCUGUUGCUAC
- г) AUGGACGAA

2. Скольким разным последовательностям мРНК может соответствовать одна аминокислотная последовательность? Напишите все возможные последовательности мРНК, кодирующие трипептид Leu–Met–Tyr. На основании вашего ответа вы сможете оценить, сколько вариантов мРНК могут кодировать один полипептид.

3. Можно ли предсказать последовательность мРНК исходя из аминокислотной последовательности ее полипептидного продукта? Определенная последовательность оснований мРНК будет кодировать одну и только одну последовательность аминокислот в полипептиде, если определена рамка считывания. Можно ли, исходя из определенной последовательности остатков аминокислот в белке, например цитохроме с, предсказать последовательность оснований в единственной мРНК, кодирующей этот белок? Ответ обоснуйте.

4. Кодирование полипептида ДНК-дуплексом. Матричная цепь участка ДНК-дуплекса содержит последовательность

(5')СТТААСАСССССТГАСТТСТСГСГССГТСТГ(3')

а) Какая последовательность оснований мРНК может транскрибироваться с этой цепи?

б) Какая аминокислотная последовательность может кодироваться молекулой мРНК, определенной вами в пункте (а) (начиная с 5'-конца)?

в) Если комплементарная (нематричная) цепь этой ДНК транскрибируется и транслируется, будет ли образуемая аминокислотная последовательность такой же, как в (б)? Объясните биологическое значение своего ответа.

5. Метионину соответствует только один кодон. Метионин — одна из двух аминокислот, которым соответствует только по одному кодону. Как единственный кодон для метионина может кодировать и первый аминокислотный остаток, и внутренние остатки метионина в пептидах, синтезируемых клетками *E. coli*?

6. Синтетические молекулы мРНК. Генетический код был расшифрован благодаря полирибонуклеотидам, синтезированным в лаборатории ферментативным или химическим путем. Учитывая современные знания о генетическом коде, как бы вы синтезировали полирибонуклеотид, который мог бы служить в качестве мРНК, кодирующий большое количество остатков Phe и немного остатков Leu и Ser? Какие еще аминокислоты кодировал бы этот полирибонуклеотид, но в еще меньшем количестве?

7. Энергетическая стоимость биосинтеза белка. Определите минимальную энергетическую стоимость (в эквивалентах АТФ) биосинтеза β-цепи

гемоглобина (146 остатков) при наличии всех необходимых аминокислот, АТФ и GTP. Сравните результат с энергетическими затратами на биосинтез линейной цепи гликогена из 146 остатков глюкозы, связанных $\alpha 1 \rightarrow 4$ -связью, при наличии глюкозы, UTP и АТФ (см. гл. 15 в т. 2). Исходя из полученного результата оцените *дополнительные* энергетические затраты на образование пептида, в котором все остатки выстраиваются в определенной последовательности, по сравнению с затратой энергии на синтез полисахарида, содержащего то же количество остатков, но не несущего информационного содержания?

Помимо прямой затраты энергии на синтез белка, есть и косвенные затраты — на производство ферментов, необходимых для синтеза белка. Сравните уровень косвенных затрат эукариотической клетки на биосинтез линейных ($\alpha 1 \rightarrow 4$) цепей гликогена и на биосинтез полипептидов с учетом количества участвующих ферментов.

8. Зная кодоны, определите антикодоны. Большинство аминокислот кодируется несколькими кодонами и связывается с несколькими тРНК — каждая со своим антикодоном. Напишите все возможные антикодоны для четырех кодонов глицина: (5')GGU, GGC, GGA и GGG.

а) На основании своего ответа определите, какие положения в антикодонах наиболее важны для определения соответствующих кодонов в случае глицина?

б) Какие основания кодона и антикодона образуют «качающиеся» пары?

в) В каких парах кодон/антикодон все три позиции связаны уотсон-криковскими водородными связями?

9. Влияние однонуклеотидной замены на аминокислотную последовательность белка. Многие важные подтверждения генетического кода были получены путем анализа изменений аминокислотной последовательности мутантных белков после замены единственного основания в генах этих белков. Какие из следующих аминокислотных замен могут быть вызваны заменой одного основания? Какие изменения не могут быть вызваны заменой одного основания? Почему?

- | | |
|--------------------------|--------------------------|
| а) Phe $\rightarrow$ Leu | д) Ile $\rightarrow$ Leu |
| б) Lys $\rightarrow$ Ala | е) His $\rightarrow$ Glu |
| в) Ala $\rightarrow$ Thr | ж) Pro $\rightarrow$ Ser |
| г) Phe $\rightarrow$ Lys | |

10. Причина серповидноклеточной мутации. Гемоглобин серповидных эритроцитов содержит остаток Val в положении 6 β -цепи вместо остатка Glu, содержащегося в нормальном гемоглобине А. Какое изменение произошло в кодоне для глутамата, в результате которого остаток Glu был заменен на Val?

11. Корректирующая функция аминоацил-тРНК-синтетаз. Изолейцил-тРНК-синтетаза имеет корректирующую активность, которая обеспечивает точность аминоацилирования, а гистидил-тРНК-синтетаза такой активности не имеет. Объясните этот факт.

12. Значение «второго генетического кода». Некоторые аминоацил-тРНК-синтетазы не распознают и не связывают антикодон соответствующих тРНК, и специфичность их связывания основана на распознавании других элементов молекул тРНК. По-видимому, к этой категории относятся тРНК для аланина.

а) Какие элементы тРНК^{Ala} распознаются Ala-тРНК-синтетазой?

б) Опишите последствия замены C $\rightarrow$ G в третьей позиции антикодона тРНК^{Ala}.

в) Какие другие типы мутаций могут оказывать аналогичное действие?

г) Мутации такого типа не были обнаружены в естественных популяциях организмов. Почему? *Подсказка.* Подумайте, что может произойти с отдельными белками и с организмом в целом.

13. Точность синтеза белка. Химические механизмы, обеспечивающие точность синтеза белка, отличаются от механизмов, обеспечивающих точность репликации ДНК. ДНК-полимеразы имеют корректирующую 3' $\rightarrow$ 5'-экзонуклеазную активность, позволяющую удалить аномально встроенные основания из растущей цепи ДНК. У рибосом нет аналогичной корректирующей функции, и присоединяющиеся с помощью тРНК аминокислоты никогда не идентифицируются. Гидролиз пептидной связи уже после того, как неправильная аминокислота встроилась в растущий полипептид (по аналогии с этапом коррекции последовательности ДНК-полимеразами), оказался бы невыгодным. Почему? *Подсказка.* Вспомните, как в процессе элон-

гации поддерживается связь между растущим полипептидом и мРНК. См. рис. 27-20 и 27-30.

14. Предсказание клеточной локализации белка. Ген эукариотического полипептида из 300 аминокислотных остатков изменен таким образом, что распознаваемая SRP сигнальная последовательность находится на N-конце полипептида, а сигнал ядерной локализации (NLS) находится внутри, начиная с позиции 150. В каком отделе клетки может оказаться этот белок?

15. Что требуется для переноса белка через мембрану? У секретируемого бактериального белка OmpA есть предшественник, ProOmpA, который содержит необходимую для секреции N-концевую сигнальную последовательность. Если денатурировать очищенный ProOmpA с помощью 8 М мочевины и затем мочевины удалить (например, быстро пропустить раствор белка через колонку для гель-фильтрации), белок переносится через выделенные внутренние бактериальные мембраны *in vitro*. Однако транслокация не происходит, если ProOmpA предварительно инкубировать несколько часов в отсутствие мочевины. Кроме того, способность к транслокации сохраняется дольше, если ProOmpA предварительно инкубировать в присутствии другого бактериального белка, называемого триггерным фактором. Опишите возможную функцию этого фактора.

16. Способность вирусной ДНК кодировать белок. Геном бактериофага фX174, состоящий из 5386 п. н., содержит 10 белков, обозначаемых от А до К, их размеры приведены ниже в таблице. Сколько ДНК нужно для кодирования этих 10 белков? Как соотносится размер генома фX174 с объемом его кодирующих последовательностей?

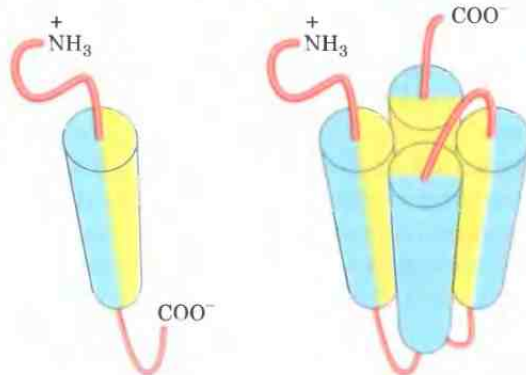
Белок	Количество остатков аминокислот	Белок	Количество остатков аминокислот
A	455	F	427
B	120	G	175
C	86	H	328
D	152	J	38
E	91	K	56

Анализ экспериментальных данных

17. Конструирование белков на основании случайных последовательностей генов. Изучение аминокислотных последовательностей и соответствующих трехмерных структур природных и мутантных белков позволило многое узнать о тех закономерностях, которые лежат в основе сворачивания белков. Для тестирования полученной информации полезно было *сконструировать* белок на основании этих закономерностей и проверить, соответствует ли его трехмерная структура предсказанной структуре.

Камтекар с коллегами (1993) использовали знание генетического кода для конструирования случайных белковых последовательностей с определенным расположением гидрофильных и гидрофобных остатков. Их подход к изучению факторов, определяющих трехмерную структуру белка, был основан на знании свойств аминокислот и генетического кода.

Исследователи сконструировали ряд белков с простой структурой, состоящей из четырех α -спиралей (см, ниже, справа; α -спирали изображены в виде цилиндров), соединенных участками с неупорядоченной спиральной структурой (розовые). Каждая α -спираль обладала амфифильными свойствами: на одной стороне спирали R-группы были только гидрофобными (желтые), а на другой стороне — только гидрофильными (голубые). Предполагалось, что белок, состоящий из четырех таких спиралей, соединенных нерегулярными спиральными последовательностями, образует трехмерную структуру, в которой гидрофильные поверхности спиралей обращены в сторону раствора.



Амфифильная спираль

Пучок из четырех спиралей

а) Какие силы или взаимодействия удерживают вместе четыре α -спирали в данном пучке?

На рис. 4-4, а (т. 1) представлен участок α -спирали, состоящий из 10 аминокислотных остатков.

б) Пронумеруйте R-группы на рис. 4-4, а сверху (N-конец; 1) вниз (C-конец; 10). R-группы с какими номерами выступают слева, а какие справа?

в) Предположим, вам нужно сконструировать участок амфифильной спирали из 10 аминокислотных остатков, в котором слева были бы расположены гидрофильные остатки, а справа — гидрофобные. Предложите последовательность из 10 аминокислот, которые могли бы образовать такую спираль. Учтите, что правильных ответов на этот вопрос может быть несколько.

г) Приведите пример последовательности двухцепочечной ДНК, которая могла бы кодировать аминокислотную последовательность, предложенную вами в ответе на вопрос (в). (Эта внутренняя последовательность, так что нет необходимости вводить в нее стартовый кодон и стоп-кодон.)

Камтекар с коллегами синтезировали белки не с определенной последовательностью, а с почти случайной последовательностью, в которой в определенных позициях находились гидрофобные и гидрофильные аминокислотные остатки. Для этой цели ученые воспользовались интересными особенностями генетического кода, что позволило им создать библиотеку искусственных молекул ДНК с почти случайными последовательностями, выстроенными определенным образом.

Для создания последовательности ДНК, которая кодировала бы случайную последовательность гидрофобных аминокислотных остатков, исследователи начали с вырожденного кодона NTN, в котором N может означать A, G, C или T. Для синтеза молекул ДНК с различными нуклеотидами в позиции N они использовали эквимольную смесь оснований A, G, C и T (см. рис. 8-35 в т. 1). Аналогичным образом, для создания случайной последовательности полярных аминокис-

лот они начали с вырожденного кодона NAN и использовали для синтеза эквимольную смесь A, G и C (в этом случае без T).

д) Какие аминокислоты может кодировать триплет NTN? Все ли аминокислоты из этого набора гидрофобные? Входят ли в этот набор *все* гидрофобные аминокислоты?

е) Какие аминокислоты может кодировать триплет NAN? Все ли они полярные? Входят ли в этот набор *все* полярные аминокислоты?

ж) Почему при синтезе кодонов NAN реакционная смесь не должна содержать основание T?

Камтекар с коллегами клонировали библиотеку случайных последовательностей ДНК на плаزمиде, отобрали 48 вариантов с правильным расположением гидрофильных и гидрофобных аминокислотных остатков и экспрессировали их в клетках *E. coli*. Далее предстояло определить, соответствует ли укладка белков предсказанной структуре. Экспрессировать и кристаллизовать каждый белок, а затем определять его трехмерную структуру было бы слишком трудоемким делом. Вместо этого исследователи использовали процессинг в клетках *E. coli* для отсева наиболее дефектных вариантов белков. После этого первичного скрининга они сохранили лишь те клоны, в которых по данным SDS-электрофореза в полиакриламидном геле была белковая полоса с ожидаемой молекулярной массой (см. рис. 3-18 в т. 1).

з) Почему белки с очень сильными нарушениями структуры не образуют при электрофорезе полосу с ожидаемой молекулярной массой?

Этот первичный тест прошли несколько белков, и дальнейшие исследования показали, что они имели предсказанную структуру из четырех спиралей.

и) Почему не все белки со случайной последовательностью, прошедшие первичный скрининг, могли образовывать структуру из четырех спиралей?

Литература

Kamtekar, S., Schiffer, J. M., Xiong, H., Babik, J. M., & Hecht, M. H. (1993) Protein design by binary patterning of polar and nonpolar amino acids. *Science* **262**, 1680–1685.

Самая важная задача химической физиологии и эмбриологии — понять, почему клетки ткани не экспрессируют постоянно все заложенные в их геномах возможности.

— Франсуа Жакоб и Жак Моно,
из статьи в *Journal of Molecular Biology*, 1961

28

Регуляция экспрессии генов

28.1. Принципы регуляции генов 230

28.2. Регуляция экспрессии генов
у бактерий 243

28.3. Регуляция экспрессии генов
у эукариот 257

В клетке одновременно экспрессируется только часть из 1000 генов типичного бактериального генома или же из 20 000 генов генома человека. Продукты некоторых генов находятся в клетке в очень большом количестве: например, необходимые для синтеза белка факторы элонгации — очень распространенные бактериальные белки, а рибулозо-1,5-бисфосфат-карбоксилаза/оксигеназа (рубиско) растений и фотосинтезирующих бактерий, по-видимому, — самый распространенный фермент в биосфере. Продукты других генов содержатся в гораздо меньших количествах, например в клетке может присутствовать несколько молекул ферментов, исправляющих редкие повреждения ДНК. Со временем потребность в продуктах генов может меняться. Так, в разных метаболических путях потребности в ферментах могут увеличиваться и уменьшаться при изменении источников питания или по мере их истощения. На различных стадиях развития многоклеточного организма белки, влияющие на дифференцировку клеток, присутствуют только в некоторых клетках и совсем краткое время. Специализация клеточных функций влияет на потребность в продук-

тах различных генов; например, в эритроцитах только один белок (гемоглобин) присутствует в очень высокой концентрации. С учетом высокой энергетической стоимости синтеза белка регуляция экспрессии генов весьма существенна для оптимального использования энергии.

Концентрация белка в клетке определяется сложным равновесием, как минимум, семи процессов, причем каждый процесс имеет несколько активных точек регуляции.

1. Синтез первичных транскриптов РНК (транскрипция).
2. Посттранскрипционная модификация мРНК.
3. Расщепление мРНК.
4. Синтез белка (трансляция).
5. Посттрансляционная модификация белка.
6. Компартиментализация и транспорт белка.
7. Расщепление белка.

Эти процессы обобщены на рис. 28-1. Некоторые механизмы мы рассмотрели в предыдущих главах. Посттранскрипционная модификация мРНК посредством таких процессов, как альтернативный сплайсинг (см. рис. 26-22) или редактирование РНК (см. рис. 27-10, 27-12), может влиять на то, какие белки синтезируются на транскриптах мРНК и в каком количестве. Скорость деградации мРНК зависит от ее нуклеотидной последовательности (разд. 26.1). Скорость трансляции мРНК и скорость посттрансляционной модификации белка, его транспорта и расщепления также зависят от множества факторов (гл. 27).

Из процессов на рис. 28-1 лучше всего исследованы те, которые действуют на уровне инициации транскрипции; они в основном и рассматриваются в данной главе. Открытия сложных, иногда даже удивительных механизмов регуляции подтверждают важность регуляции на уровне посттранскрипционной модификации и трансляции, особенно в клетках эукариот. Регуляция экспрессии многих генов происходит по сложным и даже избыточным

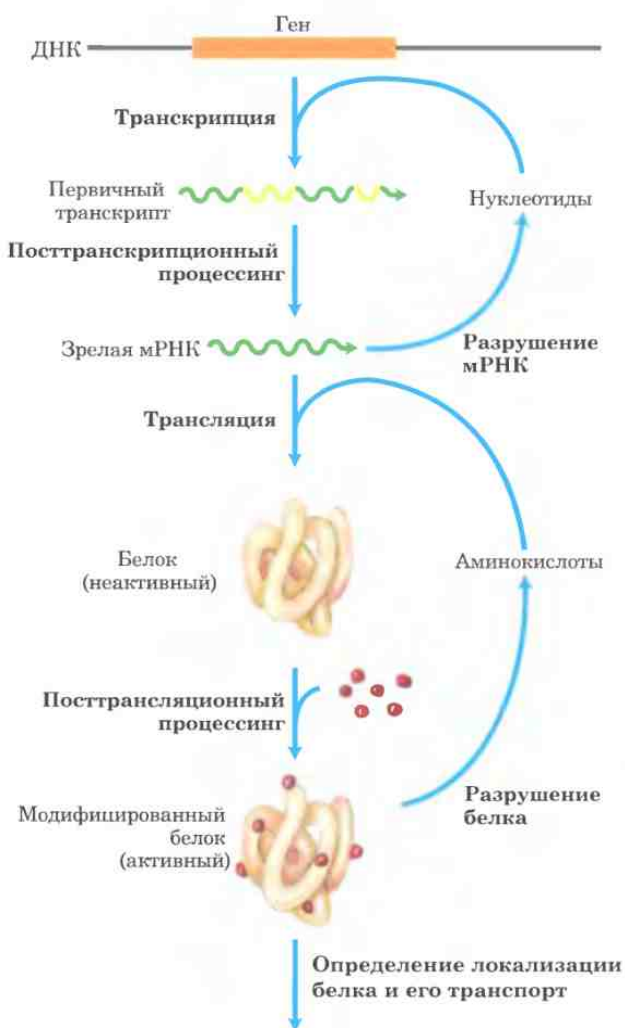


Рис. 28-1. Семь процессов, влияющих на стационарную концентрацию белка. Каждый процесс имеет несколько точек регуляции.

механизмам и поэтому она сопряжена с большими затратами химической энергии.

Контроль инициации транскрипции синхронно регулирует многочисленные гены, кодирующие продукты с взаимозависимыми функциями. Например, при сильном повреждении бактериальной ДНК клеткам требуется координированная активизация синтеза многих ферментов репарации ДНК. Вероятно, наиболее сложная координация реализуется в регуляторных схемах, которые управляют развитием многоклеточных эукариот и используют множество регуляторных механизмов.

Мы начнем с рассмотрения взаимодействий между белками и ДНК, которые играют ключевую роль в регуляции транскрипции. Затем обсудим специфические белки, влияющие на экспрессию генов у бактерий и у эукариот. Кроме того, там, где это необходимо, мы рассмотрим элементы регуляции на уровне посттранскрипционной модификации и трансляции, что позволит полнее отразить сложность механизмов регуляции.

28.1. Принципы регуляции генов

Гены тех продуктов, которые необходимы клетке постоянно, такие как гены ферментов основных метаболических путей, экспрессируются на более или менее постоянном уровне в каждой клетке организма. Такие гены часто называют **генами домашнего хозяйства**. Постоянная экспрессия гена называется **конститутивной экспрессией**.

Концентрация продуктов других генов увеличивается и уменьшается в ответ на молекулярные сигналы; это **регулируемая экспрессия гена**. Гены, концентрация продуктов которых увеличивается при особых обстоятельствах, относятся к **индуцибельным**; увеличение экспрессии называется **индукцией**. Например, экспрессия многих генов, кодирующих ферменты репарации ДНК, индуцируется при сильных повреждениях ДНК. Наоборот, гены, концентрация продуктов которых уменьшается в ответ на молекулярный сигнал, относят к **репрессибельным**, а этот процесс называется **репрессией**. Например, у бактерий избыток триптофана приводит к репрессии генов

тех ферментов, которые катализируют биосинтез триптофана.

Транскрипция опосредуется и регулируется взаимодействиями белка и ДНК, в частности, с участием белковых компонентов РНК-полимеразы (гл. 26). Сначала мы обсудим регуляцию активности РНК-полимеразы, а затем перейдем к общему описанию белков, участвующих в этом процессе. После этого мы исследуем молекулярные основы распознавания различных последовательностей ДНК специфическими белками.

РНК-полимераза связывается с ДНК в области промоторов

РНК-полимеразы связываются с ДНК в области промотора и иницируют транскрипцию (см. рис. 26-5); эти участки обычно расположены вблизи точки, в которой начинается синтез РНК на матрице ДНК. Регуляция инициации транскрипции часто действует на уровне взаимодействия РНК-полимеразы с промотором.

Нуклеотидные последовательности промоторов значительно различаются, что определяет сродство РНК-полимеразы и, следовательно, частоту инициации транскрипции. Некоторые гены *Escherichia coli* транскрибируются один раз в секунду, другие — менее одного раза за клеточный цикл. Во многом эти различия определяются спецификой последовательностей промоторов. Даже в отсутствие регуляторных белков различия в последовательностях промоторов могут объяснять более чем 1000-кратные различия в

частоте инициации транскрипции. Большинство промоторов *E. coli* имеет последовательность, близкую к консенсусной (рис. 28-2). Мутации, изменяющие консенсусную последовательность, обычно снижают эффективность промотора; и, наоборот, мутации, приближающие к консенсусной последовательности, обычно усиливают промотор.

Хотя гены домашнего хозяйства экспрессируются конститутивно, концентрация кодируемых ими продуктов в клетке изменяется в широком диапазоне. Взаимодействие РНК-полимеразы с промотором сильно влияет на вероятность инициации транскрипции этих генов; различия в последовательностях промоторов позволяют клетке синтезировать нужное количество продукта каждого конститутивного гена.

Скорость инициации транскрипции на промоторах неконститутивных генов также определяется последовательностью промотора, но далее их экспрессия модулируется регуляторными белками. Многие из этих белков действуют путем усиления или ослабления взаимодействия между РНК-полимеразой и промотором.

Последовательности эукариотических промоторов более разнообразны, чем у бактерий (см. рис. 26-9). Чтобы связаться с промотором, трем эукариотическим РНК-полимеразам обычно нужен набор основных факторов транскрипции. Тем не менее, как и при экспрессии бактериальных генов, уровень транскрипции определяется влиянием промоторных последовательностей на работу РНК-полимеразы и связанных с ней факторов транскрипции.

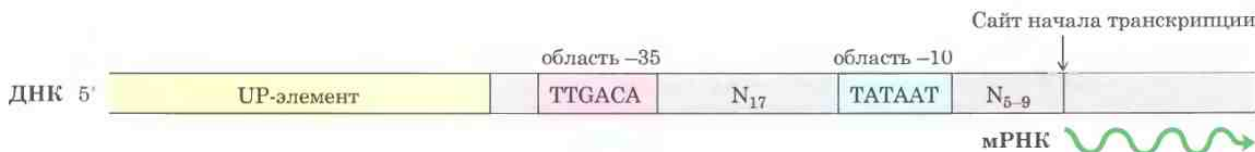


Рис. 28-2. Консенсусные последовательности промоторов *E. coli*. Большинство замен оснований на участках -10 и -35 отрицательно сказывается на эффективности промотора. Некоторые промоторы также включают в себя UP-элемент (см. рис. 26-5). По договоренности, последовательности ДНК изображают в виде нематричной цепи с 5'-концом слева. Нумерация нуклеотидов начинается в точке начала транскрипции; положительные номера находятся справа от нее (в направлении транскрипции), а отрицательные номера — слева. N — любой нуклеотид.

Инициация транскрипции регулируется белками, которые связываются с промоторами или недалеко от них

Инициацию транскрипции РНК-полимеразами регулируют, как минимум, три типа белков: **факторы специфичности** изменяют специфичность РНК-полимеразы по отношению к данному промотору или набору промоторов; **репрессоры** блокируют присоединение РНК-полимеразы к промотору; **активаторы** усиливают взаимодействие РНК-полимеразы с промотором.

Мы уже познакомились с бактериальными факторами специфичности в гл. 26, хотя там мы их так не называли. Фактор специфичности, который опосредует распознавание промотора и связывание с ним, — это σ -субъединица холофермента РНК-полимеразы *E. coli*. Большинство промоторов *E. coli* распознаются одной σ -субъединицей σ^{70} ($M_r = 70\,000$). При определенных обстоятельствах некоторые σ^{70} -субъединицы замещаются одним из шести других факторов специфичности. В частности, такая ситуация возникает, когда бактерии подвергаются тепловому шоку, что приводит к замене σ^{70} на σ^{32} ($M_r = 32\,000$). Связанная с σ^{32} РНК-полимераза направляется к специализированному набору промоторов с другими консенсусными последовательностями (рис. 28-3). Эти промоторы контролируют экспрессию нескольких генов, кодирующих белки ответа на тепловой шок, в том числе некоторые белки шапероны (с. 212). Таким образом, путем изменения сродства полимеразы, которое обеспечивает связывание с другими промоторами, достигается координированная регуляция генов, участвующих в взаимосвязанных процессах. В эукариотических клетках в качестве факторов специфичности можно рассматривать некоторые общие факторы

транскрипции, такие как ТАТА-связывающий белок (ТВР, см. рис. 26-9).

С определенными участками ДНК связываются белки-репрессоры. В бактериях их участки связывания, называемые **операторами**, обычно находятся вблизи промотора. Репрессор блокирует связывание РНК-полимеразы или ее продвижение вдоль ДНК. Регуляция с участием репрессора, подавляющего транскрипцию, называется **отрицательной регуляцией**. Связывание репрессора с ДНК регулируется сигнальной молекулой, или **эффектором**. Обычно эффектор — это небольшая молекула или белок, который присоединяется к репрессору и изменяет его конформацию. Взаимодействие между репрессором и эффектором либо усиливает, либо ослабляет транскрипцию. В некоторых случаях конформационные изменения приводят к отсоединению репрессора от оператора (рис. 28-4, а). После этого инициация транскрипции может продолжиться. В других случаях взаимодействие между неактивным репрессором и эффектором заставляет репрессор связаться с оператором (рис. 28-4, б). В эукариотических клетках участок связывания репрессора может находиться на некотором расстоянии от промотора; связывание приводит к тому же эффекту, что и в бактериальных клетках, — ингибированию сборки или активности транскрипционного комплекса на промоторе.

Активаторы оказывают противоположное действие; они связываются с ДНК и *увеличивают* активность РНК-полимеразы на промоторе. Это пример **положительной регуляции**. Участки связывания активатора часто примыкают к тем промоторам, с которыми РНК-полимераза сама по себе (т. е. без активаторов) не связывается совсем или связывается очень слабо, так что без активатора транскрипция осуществляется с очень низкой

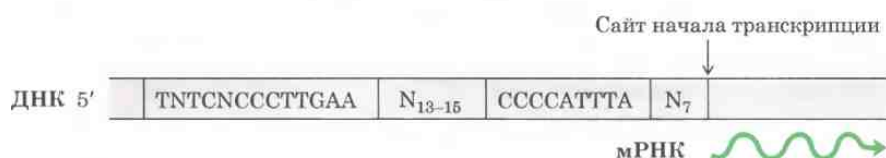


Рис. 28-3. Консенсусные последовательности промоторов, которые регулируют экспрессию генов теплового шока в клетках *E. coli*. Эта система реагирует на повышение температуры и на некоторые другие внешние стрессы, вызывая индукцию определенных белков. Связывание РНК-полимеразы с промоторами теплового шока опосредуется специализированной σ -субъединицей полимеразы σ^{32} , которая заменяет σ^{70} в инициаторном комплексе РНК-полимеразы.

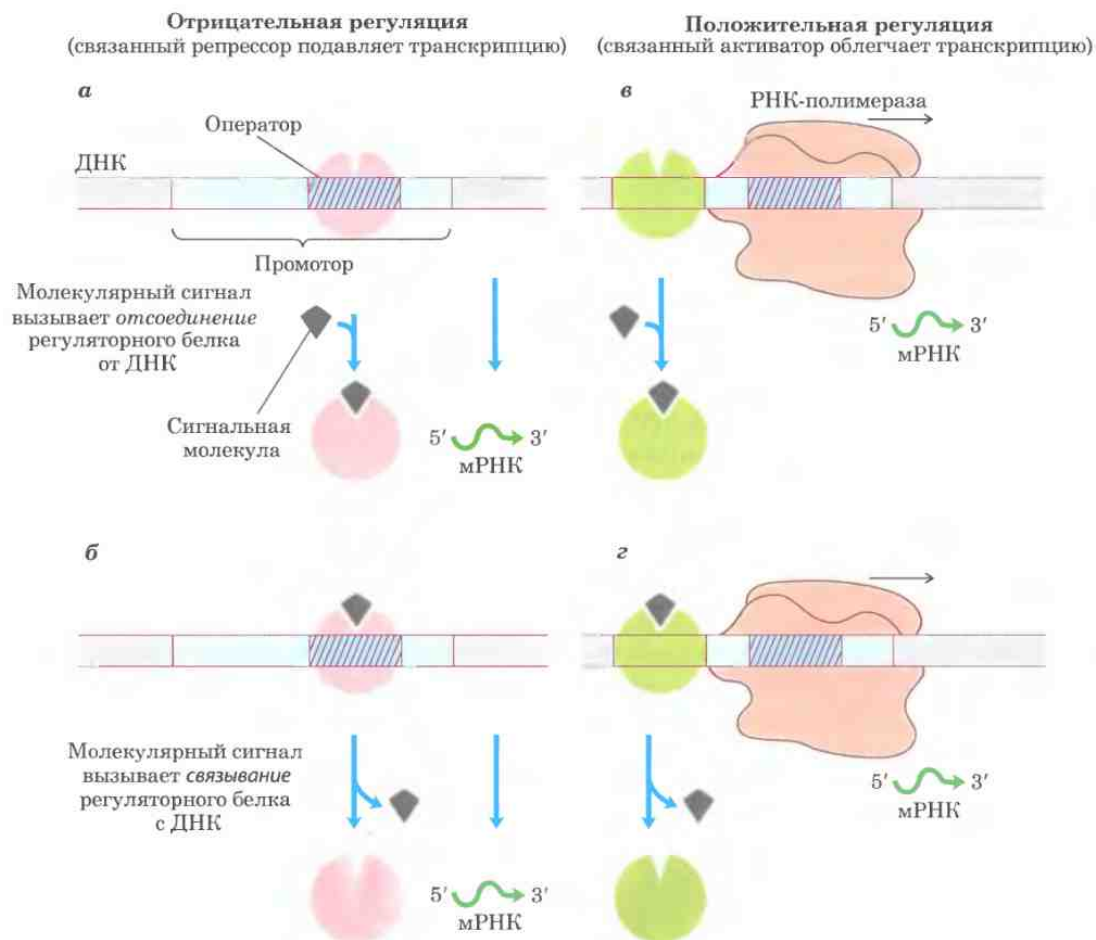


Рис. 28-4. Общие схемы регуляции инициации транскрипции. Показаны два типа отрицательной регуляции. *а* — репрессор (розовый) связывается с оператором в отсутствие сигнальной молекулы; внешний сигнал вызывает диссоциацию репрессора и тем самым разрешает транскрипцию. *б* — репрессор связывается в присутствии сигнальной молекулы; при прекращении сигнала репрессор отделяется, и начинается транскрипция. Положительную регуляцию опосредуют активаторы. Показаны два типа положительной регуляции. *в* — активатор (зеленый) связывается с ДНК в отсутствие сигнальной молекулы, и происходит транскрипция; когда приходит сигнал, активатор отделяется и транскрипция подавляется. *г* — активатор связывается с ДНК под действием сигнала и отделяется только при прекращении сигнала. Обратите внимание, что термины «положительная» и «отрицательная» регуляция относятся к регуляторному белку, участвующему в этих процессах: связанный белок либо способствует, либо препятствует транскрипции. В любом случае влияние сигнальной молекулы может усиливать или ослаблять транскрипцию в зависимости от действия этого сигнала на регуляторный белок.

эффективностью. Некоторые эукариотические активаторы усиливают транскрипцию, связываясь с участками ДНК, называемыми **энхансерами**, которые расположены далеко от промотора (на расстоянии до нескольких тысяч пар оснований). Некоторые активаторы постоянно связаны с ДНК

и усиливают транскрипцию, пока связывание сигнальной молекулы не заставляет их отделяться от ДНК (рис. 28-4, *в*). В других случаях активатор связывается с ДНК только после взаимодействия с сигнальной молекулой (рис. 28-4, *г*). Сигнальные молекулы, следовательно, могут усиливать или

ослаблять транскрипцию в зависимости от характера их воздействия на активатор. Как мы увидим далее, в эукариотах чаще реализуется положительная регуляция.

Многие бактериальные гены собраны в кластеры и регулируются в виде оперонов

У бактерий есть общий простой механизм координации регуляции генов, продукты которых участвуют в серии взаимосвязанных процессов: эти гены образуют кластеры на хромосоме и транскрибируются вместе. Многие бактериальные мРНК полицистронные (в одном транскрипте содержится несколько генов), и единственный промотор, инициирующий транскрипцию всего кластера, служит участком регуляции экспрессии всех генов кластера. Кластер генов и промотор, а также дополнительные последовательности, которые тоже участвуют в регуляции, называются **опероном** (рис. 28-5). Обычно опероны содержат от двух до шести генов, транскрибируемых как единое целое; некоторые опероны объединяют 20 или более генов.



Франсуа Жакоб,
1920–2013



Жак Моно,
1910–1976



Рис. 28-5. Типичный бактериальный оперон. Гены А, В и С транскрибируются в виде одной полицистронной мРНК. К типичным регуляторным последовательностям относятся участки связывания белков, которые либо активируют, либо подавляют транскрипцию с промотора.

Принципы экспрессии бактериальных генов впервые были выявлены при изучении метаболизма лактозы в клетках *E. coli*, которая может использовать этот сахар как единственный источник углерода. В 1960 г. Франсуа Жакоб и Жак Моно опубликовали в *Трудах Французской академии наук* короткую статью, в которой описали как два соседних гена, участвующих в метабо-

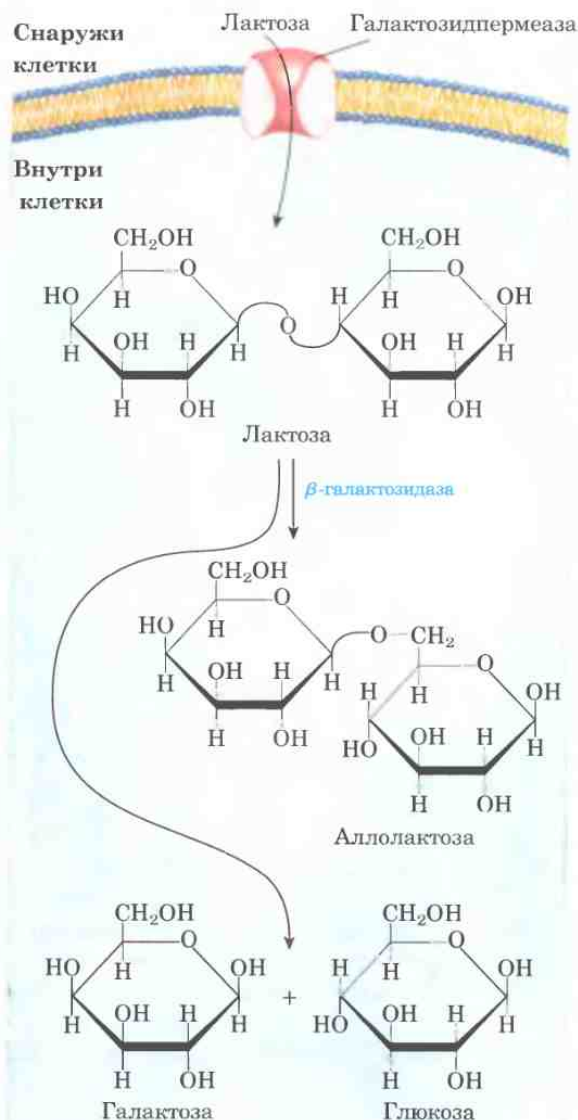


Рис. 28-6. Метаболизм лактозы в клетках *E. coli*. Для поглощения лактозы и ее метаболизма в клетках *E. coli* требуются галактозидпермеаза и β-галактозидаза. В незначительной степени β-галактозидаза также катализирует превращение лактозы в аллолактозу путем трансгликозилирования.

лизме лактозы, подвергаются координированной регуляции под действием генетического элемента, расположенного на одном конце этого кластера генов. Речь шла о гене β -галактозидазы, которая расщепляет лактозу на галактозу и глюкозу, и гене галактозидпермеазы (лактозопермеаза, с. 567 в т. 1), которая переносит лактозу внутрь клетки (рис. 28-6). В этой статье впервые появились термины «оперон» и «оператор». Представленная модель оперона впервые позволила рассматривать регуляцию генов на молекулярном уровне.

Отрицательная регуляция лактозного оперона

Лактозный оперон (*lac*) (рис. 28-7, а) содержит гены β -галактозидазы (*Z*), галактозидпермеазы (*Y*) и тиогалактозидтрансацилазы (*A*). Фермент тиогалактозидтрансацилаза, по-видимому, модифицирует токсичные галактозиды, чтобы облегчить их удаление из клетки. Каждому из этих трех генов предшествует участок связывания рибосомы (на рис. 28-7 не показан), который направляет трансляцию этого гена независимо от остальных (гл. 27).

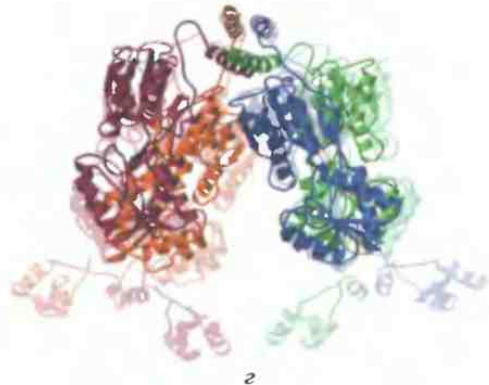
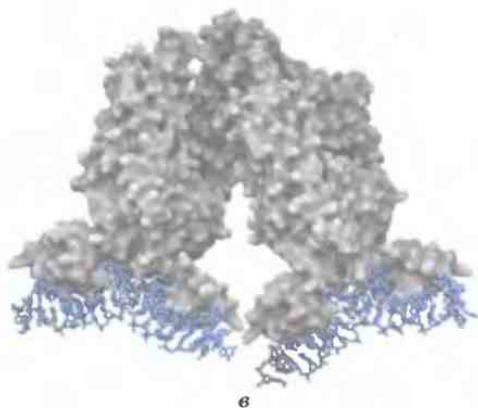
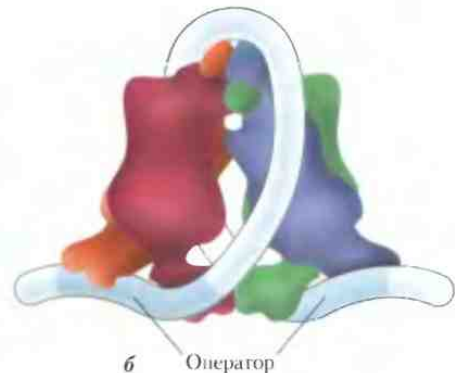
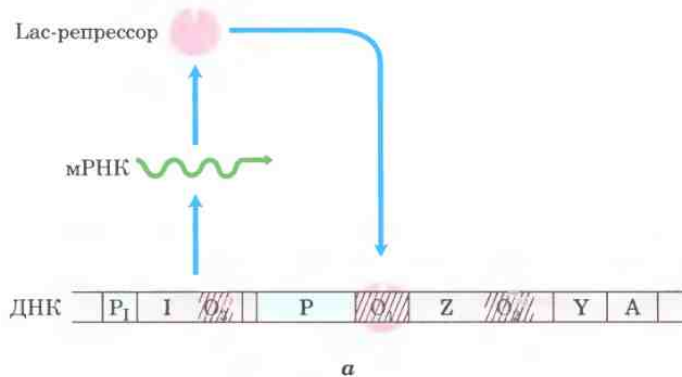


Рис. 28-7. Лактозный оперон. а — *lac*-оперон в репрессированном состоянии. Ген *I* кодирует Лас-репрессор. Гены *lac Z*, *Y* и *A* кодируют β -галактозидазу, галактозидпермеазу и тиогалактозидтрансацилазу соответственно. *P* — промотор *lac*-генов, *P*₁ — промотор гена *I*. *O*₁ — главный оператор *lac*-оперона; *O*₂ и *O*₃ — дополнительные операторы с меньшим сродством к Лас-репрессору. б — Лас-репрессор связывается с главным оператором и с дополнительными операторами *O*₂ или *O*₃, что, вероятно, приводит к образованию петли ДНК, которая обвивается вокруг репрессора. в — Лас-репрессор, связанный с ДНК (по PDB 1D 1LBG). Видно, что белок (серый) связан с короткими участками ДНК (синие). г — изменение конформации Лас-репрессора, вызванное его связыванием с искусственным индуктором изопропилтиогалактозидом (ИПТГ; по PDB 1D 1LBH и 1LBG). Структура тетраммерного репрессора показана без связанного ИПТГ (бледное изображение на заднем фоне) и со связанным ИПТГ (яркое изображение; ИПТГ не показан). В отсутствие ИПТГ связанная ДНК не показана. Когда ИПТГ связан, а ДНК не связана, ДНК-связывающие домены репрессора сильно дезорганизованы, и их нельзя выделить в кристаллическом виде.

Регуляция *lac*-оперона *lac*-репрессором (Lac) происходит по схеме, представленной на рис. 28-4, а.

При изучении клеток с мутациями *lac*-оперона были установлены некоторые подробности его регуляции. В отсутствие лактозы транскрипция генов *lac*-оперона подавлена. Мутации в области оператора или другого гена, гена *I*, приводят к конститутивному синтезу продуктов. Если ген *I* поврежден, репрессию можно восстановить, введя в клетку нормально функционирующий ген *I* на другой молекуле ДНК. Это доказывает, что ген *I* кодирует способную диффундировать молекулу, которая и подавляет транскрипцию. Оказалось, что эта молекула — тетрамерный белок, теперь называемый Лас-репрессором, состоящий из идентичных субъединиц. Оператор O_1 , с которым Лас-репрессор связывается прочнее всего, граничит с точкой начала транскрипции (рис. 28-7, а). Ген *I* транскрибируется со своего собственного промотора (P_1) независимо от других генов *lac*-оперона. В *lac*-опероне есть два дополнительных участка связывания Лас-репрессора. Центр одного из них (O_2) располагается в позиции +410 внутри гена, кодирующего β -галактозидазу (*Z*); центр второго (O_3) — в позиции -90 внутри гена *I*. Чтобы подавить экспрессию оперона, Лас-репрессор, по-видимому, связывается одновременно с главным оператором и с одним из двух дополнительных участков, так что расположенная между ними последовательность ДНК образует петлю (рис. 28-7, б, в). При любом варианте связывания инициация транскрипции блокируется.

Несмотря на образование этого сложного комплекса, транскрипция подавляется не полностью. Связывание Лас-репрессора уменьшает вероятность инициации транскрипции в 10^3 раз. Если сайты O_2 и O_3 повреждены в результате делеции или мутации, связывание Лас-репрессора с одним только оператором O_1 уменьшает транскрипцию в 10^2 раз. Даже при связывании репрессора в каждой клетке есть несколько молекул β -галактозидазы и галактозидпермеазы, по-видимому, синтезированных во время тех редких эпизодов, когда *lac*-репрессор на краткое время отсоединяется от операторов. Этот минимальный уровень транскрипции необходим для регуляции оперона.

Когда в клетках появляется лактоза, происходит индукция *lac*-оперона. Молекула индуктора связывается с особым участком Лас-

репрессора, изменяя его конформацию (рис. 28-7, г) и приводя к отделению репрессора от оператора. Индуктором в системе *lac*-оперона служит не сама лактоза, а ее изомер — аллолактоза (рис. 28-6). Транспорт лактозы в клетки *E. coli* осуществляет присутствующий там фермент пермеаза; далее под действием β -галактозидазной активности лактоза превращается в аллолактозу. Отделение репрессора от оператора после связывания репрессора с аллолактозой позволяет начать транскрипцию генов *lac*-оперона и приводит к тысячекратному увеличению концентрации β -галактозидазы.

Некоторые β -галактозиды, похожие по строению на аллолактозу, индуцируют *lac*-оперон, но не являются субстратами β -галактозидазы; другие, наоборот, являются субстратами β -галактозидазы, но не индукторами. В экспериментах часто используется очень эффективный (и при этом нерасщепляемый) индуктор *lac*-оперона изопропилтиогалактозид (IPTG):



Нерасщепляемый индуктор позволяет изучать физиологическую роль лактозы как источника углерода для роста клеток независимо от ее участия в регуляции экспрессии генов.

В клетках бактерий обнаружено множество оперонов; несколько полицистронных оперонов найдено и в клетках низших эукариот. Однако в клетках высших эукариот почти все гены, кодирующие белки, транскрибируются по отдельности.

Механизмы регуляции оперонов могут значительно отличаться от простой модели, представленной на рис. 28-7. Даже *lac*-оперон на самом деле сложнее, чем показано здесь; как мы увидим в разд. 28.2, в системе действует еще и активатор. Прежде чем перейти к рассмотрению уровней регуляции экспрессии, мы исследуем ключевые молекулярные взаимодействия между ДНК-связывающими белками (такими как репрессоры и активаторы) и последовательностями ДНК, с которыми они связываются.

Регуляторные белки содержат специальные ДНК-связывающие домены

Регуляторные белки обычно связываются со специфическими последовательностями ДНК. Их сродство к этим последовательностям в 10^4 – 10^6 раз выше, чем к любым другим участкам ДНК. Большинство регуляторных белков имеет особые ДНК-связывающие домены, которые специфично и прочно связываются с ДНК. Эти связывающие домены почти всегда содержат одну или несколько небольших функциональных групп с характерными структурными мотивами.

Для специфического связывания с ДНК регуляторные белки должны распознавать характерные структурные элементы ДНК. Большинство функциональных групп, определяющих различия между четырьмя азотистыми основаниями, выступают в большую бороздку ДНК, где участвуют в образовании водородных связей (рис. 28-8). Почти все специфические контакты между ДНК и белком обеспечиваются водородными связями. Примечательно, что при С-5 пиримидинового цикла тимина (в отличие от цитозина) имеется неполярная метильная группа, которая не может участвовать в образовании водородных связей. Белки могут контактировать с ДНК и в малой бороздке, но здесь они, как правило, не различают пары оснований друг от друга.

Регуляторные белки чаще всего образуют водородные связи между основаниями ДНК и боковыми цепями остатков Asn, Gln, Glu, Lys и Arg. Есть ли простой код распознавания, в соответствии с которым определенная аминокислота всегда спаривается с определенным основанием? Две водородные связи, которые образуют Asn и Gln с N⁶ и N-7 аденина, не могут возникнуть между другими основаниями. Остаток Arg может образовать две водородные связи с N-7 и O⁶ гуанина (рис. 28-9). Однако изучение структур многих ДНК-связывающих белков показало, что белок может узнавать каждую пару оснований более чем одним способом; из этого следует вывод, что простого кода «аминокислота–основание» не существует. У некоторых белков взаимодействие Gln–аденин может точно идентифицировать пару А=Т, а у других белков карман для метильной группы тимина также позволяет узнавать пару оснований А=Т. Даже зная структуру ДНК-связывающего белка, пока нельзя на этой основе предложить последовательность ДНК, с которой он связывается.

Для взаимодействия с основаниями в большой бороздке ДНК белок должен содержать относительно небольшой структурный фрагмент, выступающий над поверхностью белка. ДНК-связывающие домены регуляторных белков обычно небольшого размера (60–90 аминокислотных остатков), а структурные фрагменты внутри этих доменов, которые непосредственно

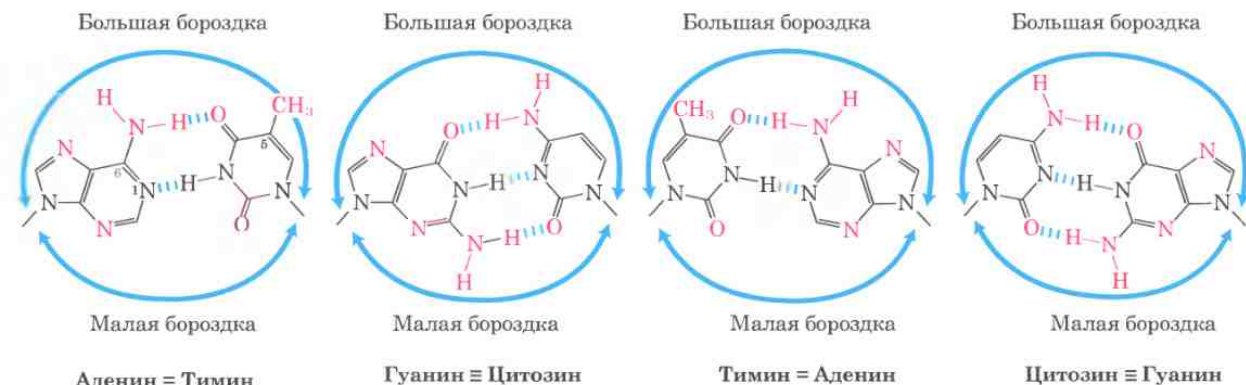


Рис. 28-8. Функциональные группы ДНК, участвующие в связывании белка. Показаны все четыре варианта пар оснований и их функциональные группы, которые располагаются в большой и малой бороздках ДНК. Группы, которые могут быть использованы белками для распознавания пар оснований, выделены красным цветом.

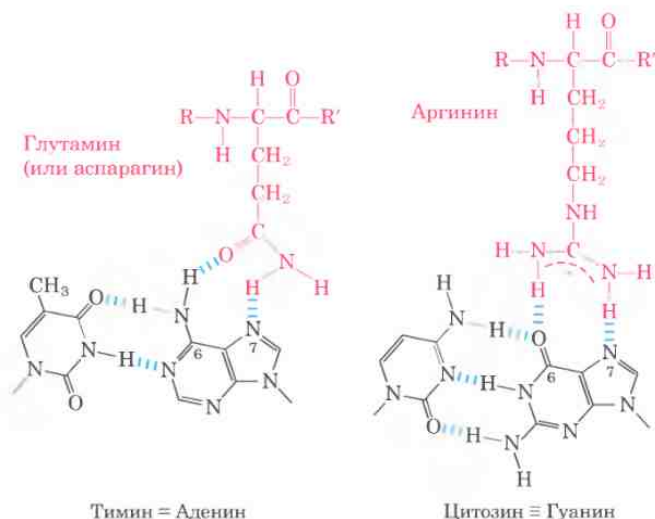


Рис. 28-9. Два примера специфического взаимодействия при связывании ДНК и белка.

контактируют с ДНК, еще меньше. Многие маленькие белковые молекулы нестабильны из-за своих ограниченных возможностей сформировать складки для прикрытия гидрофобных групп (с. 173 в т. 1). ДНК-связывающие мотивы либо обладают очень компактной стабильной структурой, либо обеспечивают способ, позволяющий сегменту белка выступать над его поверхностью.

В ДНК участки связывания с регуляторными белками часто представлены инвертированными повторами коротких последовательностей (палиндромами), с которыми происходит кооперативное связывание нескольких (обычно двух) субъединиц регуляторного белка. В этом смысле Лас-репрессор необычен тем, что он функционирует в виде тетрамера из двух димеров, сцепленных вместе концами, удаленными от участков связывания ДНК (рис. 28-7, б). Клетка *E. coli* содержит около 20 тетрамеров Лас-репрессора. Каждый из сцепленных димеров в отдельности

связывается с палиндромной последовательностью оператора и находится в контакте с 17 из 22 п. н. *lac*-оперона (рис. 28-10). Каждый из сцепленных димеров может независимо связываться с операторной последовательностью, причем один обычно связывается с O_1 , а другой — с O_2 или O_3 (как на рис. 28-7, б). Последовательности оператора O_1 двух парных субъединиц Лас-репрессора имеет ось симметрии второго порядка. Тетрамерный Лас-репрессор *in vivo* связывается со своей операторной последовательностью; константа диссоциации $\sim 10^{-10}$ М. Репрессор связывается с оператором примерно в 10^6 чаще, чем с другими последовательностями, таким образом, связывание именно с этими несколькими парами оснований из 4,6 млн п. н. в хромосоме *E. coli* высокоспецифично.

Описано несколько ДНК-связывающих мотивов, но здесь мы сосредоточим внимание на двух, которые более всего важны при связывании



Рис. 28-10. Связь между *lac*-операторной последовательностью O_1 и *lac*-промотором. На бежевом фоне выделены основания (образуют палиндром), симметричные относительно оси, обозначенной вертикальной пунктирной линией.

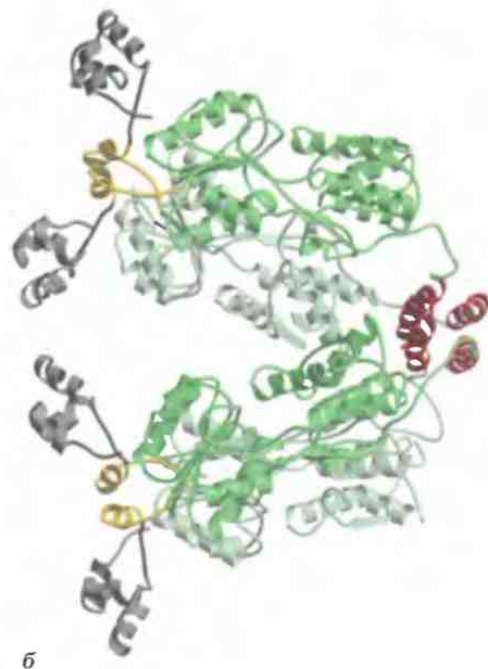
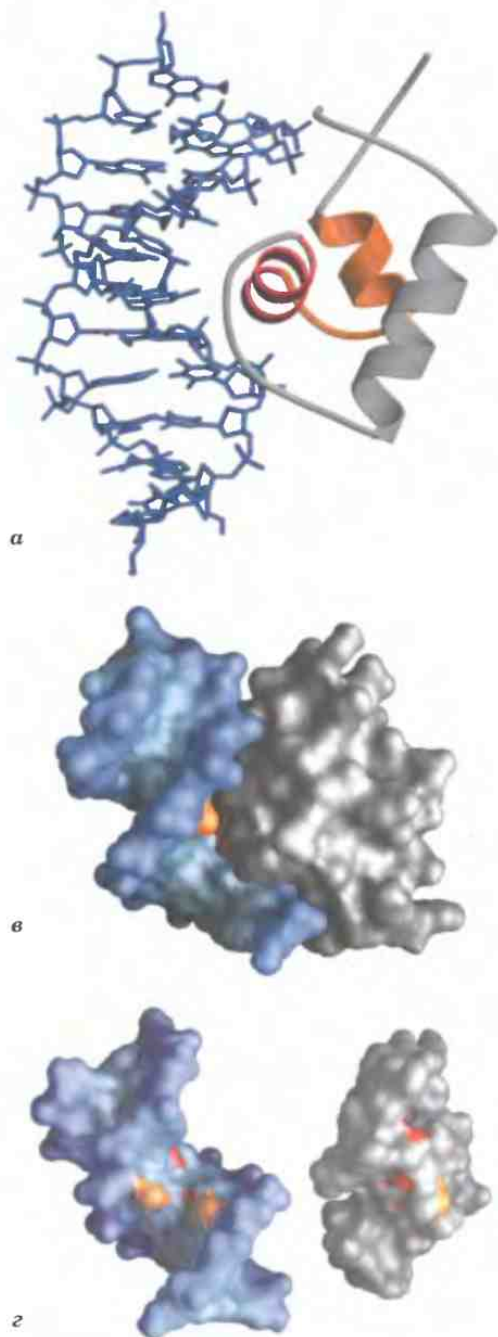


Рис. 28-11. Спираль–поворот–спираль. *а* — ДНК-связывающий домен Лас-репрессора (PDB 1D 1LCC). Мотив спираль–поворот–спираль изображен красным и оранжевым цветами; ДНК-распознающая спираль красная. *б* — Лас-репрессор целиком (по PDB 1D 1LBC). ДНК-связывающие домены — серые, участвующие в образовании тетрамера α -спирали — красные. Оставшаяся часть белка (оттенки зеленого) содержит участки связывания с аллолактозой, соединенные с ДНК-связывающим доменом линкерными спиралями (желтые). *в* — поверхность ДНК-связывающего домена Лас-репрессора (серый), связанного с ДНК (синяя). *г* — та же ДНК-связывающая область, что и на рис. *в*, но отделенная от ДНК; видны поверхности белка и ДНК, взаимодействующие при связывании. Некоторые функциональные группы белка и ДНК, образующие водородные связи, выделены красным цветом; другие группы, которые связаны гидрофобными взаимодействиями, оранжевые. Эта модель позволяет увидеть только некоторые группы, участвующие в узнавании последовательности ДНК. Комплементарность двух поверхностей весьма заметна.

ДНК с регуляторными белками: это мотивы **спираль–поворот–спираль** и **цинковый палец**. Мы также рассмотрим ДНК-связывающий домен другого типа (гомеодомен), обнаруженный в некоторых эукариотических белках.

Спираль–поворот–спираль. Этот ДНК-связывающий мотив играет очень важную роль при

взаимодействиях с ДНК многих регуляторных белков у бактерий; похожие мотивы также обнаружены в некоторых эукариотических регуляторных белках. Мотив спираль–поворот–спираль состоит примерно из 20 аминокислот, образующих два коротких α -спиральных сегмента, каждый длиной 7–9 аминокислотных остатков, разделенных β -поворотом (рис. 28-11). Сама эта

структура нестабильна; она входит в более крупный ДНК-связывающий домен. Один из двух α -спиральных сегментов называется распознающей спиралью, так как здесь обычно содержатся аминокислоты, взаимодействующие с ДНК специфическим образом. Эта α -спираль лежит поверх других сегментов белковой структуры и выступает над поверхностью белка. При связывании с ДНК распознающая спираль располагается внутри или почти внутри большой бороздки. У Lac-репрессора именно такой ДНК-связывающий структурный фрагмент (рис 28-11).

Цинковый палец. В мотиве цинкового пальца около 30 аминокислотных остатков образуют вытянутую петлю, основание которой удерживается одним ионом Zn^{2+} , координированного с четырьмя аминокислотными остатками (четыре остатка Cys или два остатка Cys и два остатка His). Ион цинка не взаимодействует с ДНК, а служит для стабилизации этого маленького структурного мотива. Поддержанию стабильности также способствует наличие нескольких гидрофобных боковых цепей внутри структуры. На **рис. 28-12** показано взаимодействие между ДНК и тремя цинковыми пальцами из одного полипептида мышинного регуляторного белка Zif 268.

Многие ДНК-связывающие белки эукариот содержат мотив цинкового пальца. Взаимодействие одного цинкового пальца с ДНК обычно слабое, и многие ДНК-связывающие белки, как и Zif 268, содержат множество цинковых пальцев, что существенно усиливает связывание. Один из ДНК-связывающих белков лягушки *Xenopus* имеет 37 цинковых пальцев. В бактериальных белках этот мотив встречается очень редко.

В разных белках с цинковыми пальцами связывание с ДНК осуществляется по-разному. Некоторые цинковые пальцы содержат аминокислотные остатки, важные для распознавания последовательности ДНК, тогда как другие, по-видимому, связываются с ДНК неспецифическим образом (в последнем случае аминокислоты, необходимые для специфического связывания, расположены в других участках белка). Цинковые пальцы могут также участвовать в связывании РНК, например, в некоторых белках, связывающихся с эукариотической мРНК и действующих в качестве репрессоров трансляции. Мы обсудим их функцию позднее (разд. 28.3).

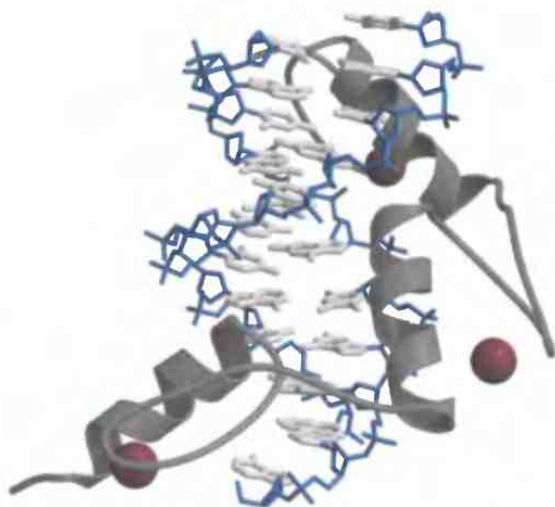


Рис. 28-12. Цинковый палец. Три цинковых пальца (серые) регуляторного белка Zif 268 в комплексе с ДНК (синие и светло-серые) (PDB 1D 1A1L). Каждый ион Zn^{2+} (коричневые) координирован с двумя остатками His и двумя остатками Cys (не показано).

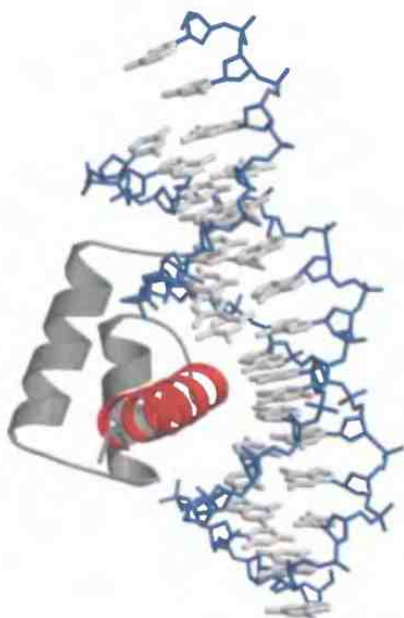


Рис. 28-13. Гомеодомен. Показан гомеодомен, связанный с ДНК; можно видеть, что одна из α -спиралей (красная), наложенная на две другие, укладывается внутри большой бороздки ДНК (PDB 1D 1B81). Это только небольшая часть гораздо более крупного белка Ultrabithorax (Ubx), участвующего в регуляции развития плодовой мушки (см. разд. 28.3).

Гомеодомен. ДНК-связывающий домен другого типа был идентифицирован в ряде белков, участвующих в регуляции транскрипции, особенно в процессе развития эукариот. Этот участок из 60 аминокислот называется **гомеодоменом**, поскольку он был открыт в гомеозисных генах (генах, регулирующих развитие тела). Этот высококонсервативный домен обнаружен в белках широкого круга организмов, включая человека (рис. 28-13). ДНК-связывающий участок этого домена родственен мотиву спираль-поворот-спираль. Последовательность ДНК, которая кодирует этот домен, называется **гомеобоксом**.

Регуляторные белки содержат также домены, ответственные за взаимодействия белка с белком

Регуляторные белки содержат не только домены для связывания с ДНК, но и домены для взаимодействия с белками — с РНК-полимеразой, другими регуляторными белками или с другими субъединицами того же регуляторного белка. Это

характерно, например, для многих эукариотических факторов транскрипции, функционирующих в качестве активаторов генов. Они часто связываются с ДНК в виде димеров, используя ДНК-связывающие домены с цинковыми пальцами. Некоторые структурные домены предназначены для взаимодействий, обеспечивающих образование димеров, если это необходимо для связывания с ДНК. Как и в случае ДНК-связывающих мотивов, среди структурных мотивов, обеспечивающих взаимодействия белка с белком, можно выделить мотивы несколько типов. Среди них следует упомянуть **лейциновую молнию** и **основную спираль-петлю-спираль**. Наличие этих структурных мотивов позволяет подразделить регуляторные белки на различные структурные семейства.

Лейциновая молния. Этот мотив представлен амфифильной α -спиралью, на одной стороне которой сгруппированы гидрофобные аминокислотные остатки (рис. 28-14): гидрофобная поверхность образует зону контакта между двумя полипептидами димера. Особенность этих

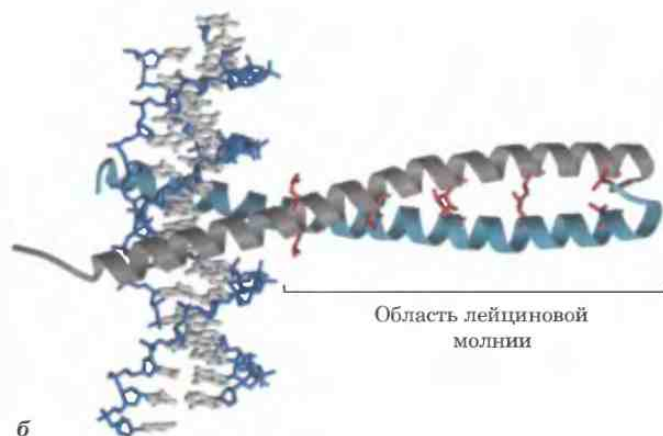


Рис. 28-14. Лейциновая молния. а — сравнение аминокислотных последовательностей нескольких белков, содержащих лейциновые молнии. Обратите внимание на остатки Leu (L) в каждой седьмой позиции в области молнии и на ряд остатков Lys (K) и Arg (R) в ДНК-связывающем участке. б — лейциновая молния из дрожжевого белка GCN₄ (PDB 1D 1YSA). Показаны только «застегнутые» α -спирали (серая и голубая), относящиеся к разным субъединицам димерного белка. Две спирали оборачиваются одна вокруг другой с образованием суперспирали. Взаимодействующие остатки Leu выделены красным цветом.

α -спиралей заключается в наличии в каждой седьмой позиции остатков Leu, которые образуют прямую линию вдоль гидрофобной поверхности. Ранее предполагали, что остатки Leu смыкаются, как застежка-молния, но теперь известно, что они выстраиваются в линию благодаря тому, что взаимодействующие α -спирали обвивают друг друга, образуя суперспираль (рис. 28-14, б). В регуляторных белках с лейциновыми молниями часто имеется отдельный ДНК-связывающий домен с высоким содержанием положительно заряженных остатков аминокислот (Lys или Arg), которые могут взаимодействовать с несущими отрицательный заряд фосфатными группами скелета ДНК. Лейциновые молнии обнаружены во многих эукариотических белках и в нескольких белках бактерий.

Основная спираль–петля–спираль. Этот структурный мотив встречается в некоторых эукариотических регуляторных белках, участвующих в контроле экспрессии генов при развитии многоклеточных организмов. Эти белки содержат консервативную область длиной около 50 аминокислотных остатков, которая в равной степени важна как для связывания с ДНК, так и для димеризации белка. Этот участок образует две короткие амфифильные α -спирали, соединенные петлей различной длины. Мотив спираль–петля–спираль следует отличать от мотива спираль–поворот–спираль, который участвует в связывании ДНК. Мотивы спираль–петля–спираль двух полипептидов взаимодействуют с образованием димеров (рис. 28-15). Связывание этих белков с ДНК опосредуют короткие смежные аминокислотные последовательности, богатые остатками основных аминокислот; эти короткие последовательности напоминают отдельные ДНК-связывающие участки в белках с лейциновыми молниями.

Комбинации субъединиц в регуляторных белках эукариот. На основании близкого структурного сходства было выделено несколько семейств эукариотических факторов транскрипции. Члены каждого семейства могут образовывать димеры из двух одинаковых белков (гомодимер) или из двух разных белков, принадлежащих к одному семейству (гетеродимер). Гипотетическое семейство из четырех различных белков с лейциновыми молниями может, таким образом, образовать 10 разно-

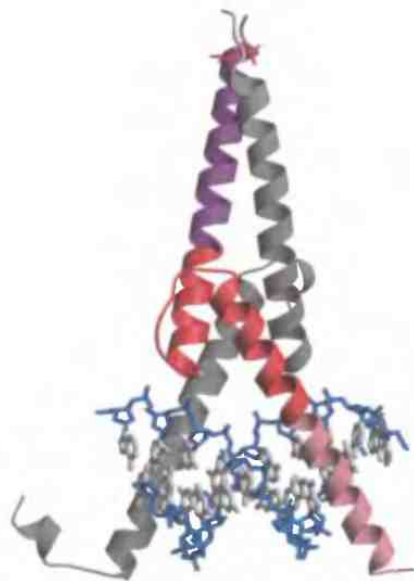


Рис. 28-15. Спираль–петля–спираль. Человеческий транскрипционный фактор Max, связанный с ДНК (PDB 1D1HLO). Белок представляет собой димер (окрашена лишь одна субъединица). ДНК-связывающий сегмент (розовый) стыкуется с первой спиралью мотива спираль–петля–спираль (красный). Вторая спираль стыкуется с С-концом этой субъединицы (фиолетовая). Взаимодействие С-концевых спиралей двух субъединиц приводит к образованию суперспиральной структуры, очень напоминающей структуру лейциновой молнии (см. рис. 28-14, б), но в данном примере лишь с одной парой взаимодействующих остатков Leu (красные боковые цепи вверх). Всю эту структуру в целом иногда называют мотивом спираль–петля–спираль/лейциновая молния.

видностей димеров. Во многих случаях различные комбинации, по-видимому, имеют разные регуляторные и функциональные особенности.

Наряду со структурными доменами для связывания с ДНК и для димеризации (или олигомеризации) многие регуляторные белки должны также содержать участки для взаимодействия с РНК-полимеразой и/или с неродственными регуляторными белками. Охарактеризованы дополнительные домены, как минимум, трех различных типов, они ответственны за межбелковые взаимодействия (в первую очередь у эукариот): домен, богатый глутамином, богатый пролином и кислый домены; названия отражают природу аминокислотных остатков, которые преобладают в этих доменах.

Связывание ДНК с белком — основа сложных регуляторных схем функционирования генов. Теперь мы переходим к более подробному изучению этих схем сначала в бактериальных, а затем в эукариотических системах.

Краткое содержание раздела 28.1

ПРИНЦИПЫ РЕГУЛЯЦИИ ГЕНОВ

- Экспрессию генов регулируют процессы, влияющие на скорость синтеза и разрушения продуктов генов. В значительной степени регуляция осуществляется на уровне инициации транскрипции посредством регуляторных белков, которые либо подавляют транскрипцию (отрицательная регуляция), либо активируют ее (положительная регуляция) на специфических промоторах.
- Гены бактерий, кодирующие продукты с взаимосвязанными функциями, часто организованы в кластеры — опероны (отдельные транскрипционные единицы). Транскрипция генов обычно блокируется при связывании специфического белка-репрессора с участком ДНК, называемым оператором. Небольшие молекулы (индукторы) могут вызывать отсоединение репрессора от оператора. Эти принципы впервые были установлены при изучении лактозного (*lac*) оперона. Лас-репрессор отделяется от *lac*-оператора, когда репрессор связывается со своим индуктором аллолактозой.
- Регуляторные белки — ДНК-связывающие белки, распознающие специфические последовательности ДНК; в большинстве регулируемых белков имеется особый ДНК-связывающий домен. Для этих доменов характерны типичные структурные мотивы, ответственные за связывание с ДНК: спираль-поворот-спираль, цинковый палец и гомеодомен.
- Регуляторные белки также содержат домены для межбелковых взаимодействий; это лейциновая молния и спираль-петля-спираль, необходимые для димеризации, а также другие мотивы, участвующие в активации транскрипции.

28.2. Регуляция экспрессии генов у бактерий

Как и во многих других биохимических исследованиях, ранее регуляция экспрессии генов изучалась у бактерий, а потом уже у других организмов. Представленные ниже примеры регуляции бактериальных генов выбраны из множества хорошо изученных систем отчасти из-за их исторического значения, но прежде всего потому, что они позволяют оценить весь спектр регуляторных механизмов у бактерий. Принципы регуляции бактериальных генов помогают в понимании механизмов экспрессии генов в эукариотических клетках.

Мы начнем с изучения лактозного и триптофанового оперонов; в каждой из этих систем участвуют регуляторные белки, но общие механизмы регуляции очень различаются. Далее мы в общих чертах рассмотрим механизм SOS-ответа в клетках *E. coli* и увидим, каким образом осуществляется координированная регуляция генов, рассеянных по всему геному. Затем мы исследуем две совершенно разные бактериальные системы с тем, чтобы показать разнообразие механизмов регуляции, а именно рассмотрим, во-первых, регуляцию синтеза рибосомного белка на уровне трансляции, в процессе которой многие регуляторные белки связываются с РНК, а не с ДНК; во-вторых, регуляцию так называемой фазовой вариации у сальмонеллы, которая возникает вследствие генетической рекомбинации. Наконец, мы разберем некоторые дополнительные примеры посттранскрипционной регуляции, когда РНК сама модулирует свою функцию.

Положительная регуляция лактозного оперона

Взаимодействия оператора, репрессора и индуктора, описанные здесь на примере *lac*-оперона (рис. 28-7), представляют собой упрощенную модель регуляции экспрессии генов по механизму включения/выключения. В действительности регуляция оперона редко бывает настолько простой. Среда обитания бактерий слишком сложная, чтобы их гены можно было контролировать одним-единственным сигналом. Наряду с лактозой на экспрессию *lac*-генов влияют и другие факторы, например глюкоза. Для *E. coli* глюкоза, расщепляемая в процессе гликолиза, предпо-

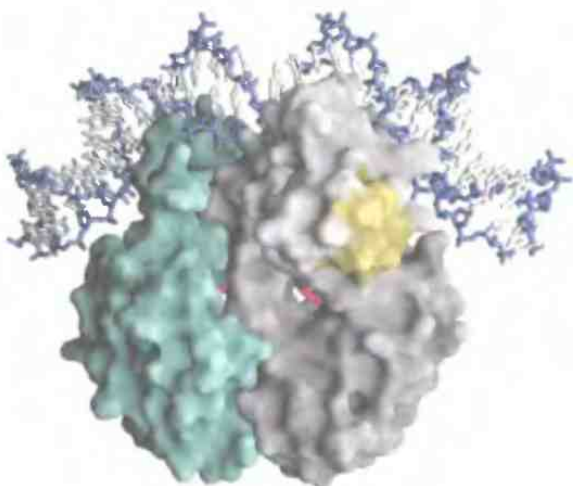


Рис. 28-16. Гомодимер CRP (PDB 1D 1RUN). Связанная молекула сАМР показана красным цветом. Обратите внимание, как ДНК изгибается вокруг белка. Область, которая взаимодействует с РНК-полимеразой (желтая).

чительна как источник энергии. Другие сахара тоже могут служить главным или единственным питательным субстратом, но для их включения в гликолиз требуются дополнительные реакции, для которых нужны специфические ферменты. Очевидно, что экспрессия генов белков, расщепляющих такие сахара, как лактоза или арабино-

за, совершенно не оправдана при наличии достаточного количества глюкозы.

А как происходит экспрессия *lac*-оперона, если в среде одновременно присутствуют и глюкоза, и лактоза? В присутствии глюкозы экспрессию генов, необходимых для катаболизма лактозы, арабинозы и других вторичных сахаров, ограничивает регуляторный механизм, называемый **катаболитной репрессией**. Влияние глюкозы опосредует сАМР, выступающий в качестве коактиватора, и активаторный белок, называемый **сАМР-рецепторным белком (CRP, или CAP** — от англ. *catabolite gene activator protein* — белок-активатор катаболитных генов). Белок CRP представляет собой гомодимер (масса субъединицы $M_r = 22\,000$), содержащий участки для связывания ДНК и сАМР. Связывание осуществляется через мотив спираль-поворот-спираль в ДНК-связывающем домене белка (**рис. 28-16**). В отсутствие глюкозы комплекс CRP-сАМР связывается с ДНК вблизи *lac*-промотора (**рис. 28-17, а**) и в 50 раз усиливает транскрипцию РНК. Следовательно, комплекс CRP-сАМР — положительный регуляторный элемент, реагирующий на концентрацию глюкозы, а Лас-репрессор — отрицательный регуляторный элемент, реагирующий на лактозу. Оба элемента действуют согласованно. Когда Лас-репрессор блокирует транскрипцию, комплекс

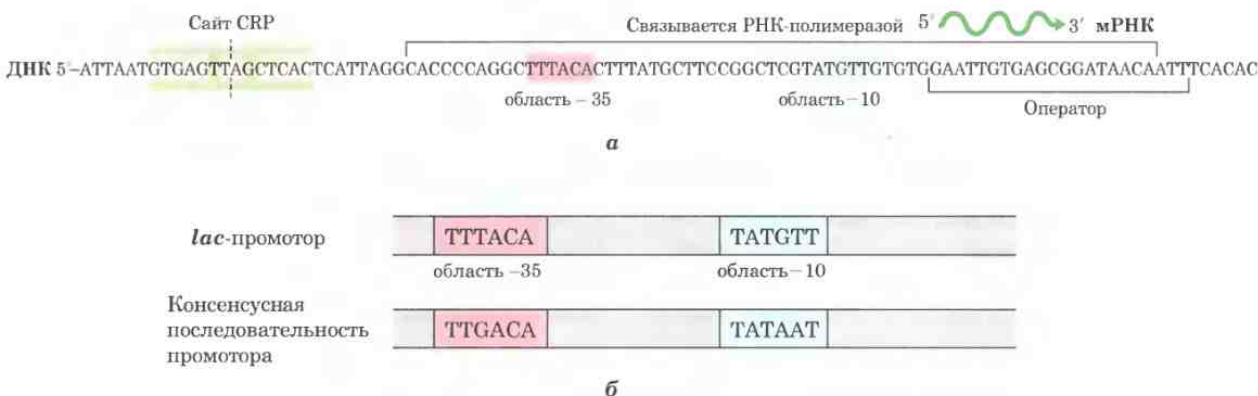


Рис. 28-17. Активация транскрипции *lac*-оперона под действием CRP. **а** — участок связывания комплекса CRP-сАМР находится вблизи промотора. Как и последовательность *lac*-оператора, этот участок двухцепочечной ДНК симметричен относительно оси, обозначенной штриховой линией (комплементарные основания бежевые). **б** — последовательность *lac*-промотора по сравнению с консенсусной последовательностью промотора. Различия с консенсусной последовательностью обуславливают относительно слабое связывание РНК-полимеразы с *lac*-промотором до тех пор, пока ее не активирует комплекс CRP-сАМР.

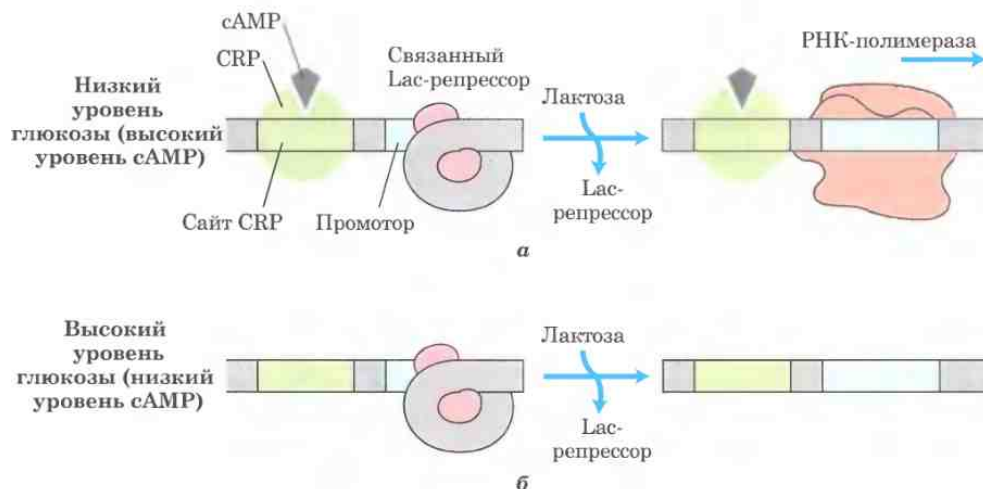


Рис. 28-18. Влияние глюкозы и лактозы на экспрессию *lac*-оперона. *а* — высокий уровень транскрипции достигается только при достаточно низкой концентрации глюкозы (когда концентрация cAMP высокая, и комплекс CRP–cAMP связан с ДНК) и высокой концентрации лактозы (когда Лас-репрессор не связан с ДНК). *б* — без связанного активаторного комплекса CRP–cAMP транскрипция с *lac*-промотора слабая, даже когда концентрация лактозы высокая, и Лас-репрессор не связан с ДНК.

CRP–cAMP оказывает незначительное влияние на *lac*-оперон, и диссоциация репрессора от *lac*-оператора мало изменяет транскрипцию *lac*-оперона, если не присутствует комплекс CRP–cAMP, облегчающий транскрипцию. Без связанного CRP *lac*-промотор дикого типа является довольно слабым промотором (рис. 28-17. *б*). В отсутствие комплекса CRP–cAMP открытый комплекс РНК-полимеразы и промотора (см. рис. 26-6) образуется с трудом. Белок CRP взаимодействует непосредственно с α -субъединицей РНК-полимеразы (рис. 28-16).

Действие глюкозы на CRP опосредовано cAMP (рис. 28-18). Наиболее активно CRP связывается с ДНК при высокой концентрации cAMP. В присутствии глюкозы синтез cAMP подавляется, и стимулируется его выход из клетки. По мере снижения концентрации cAMP ослабевает связывание CRP с ДНК, что снижает экспрессию *lac*-оперона. Поэтому для сильной индукции *lac*-оперона необходимо присутствие и лактозы (для инактивации *lac*-репрессора), и глюкозы в низкой концентрации (для повышения концентрации cAMP и усиления связывания cAMP с CRP).

CRP и cAMP участвуют в координированной регуляции многих оперонов, прежде всего

тех, которые кодируют ферменты метаболизма сахаров, таких как лактоза и арабиноза. Несколько оперонов с общим регулятором называется регулоном. Эта структура из сотен генов участвует в координации и изменении клеточных функций, а также играет центральную роль в регуляции экспрессии генов, рассеянных по геному эукариот. Приведем примеры бактериальных регулонов: система генов теплового шока, которая реагирует на изменения температуры (разд. 26.1), и система генов, индуцируемых в клетках *E. coli* в рамках SOS-ответа на повреждения ДНК; эти регулоны описаны ниже.

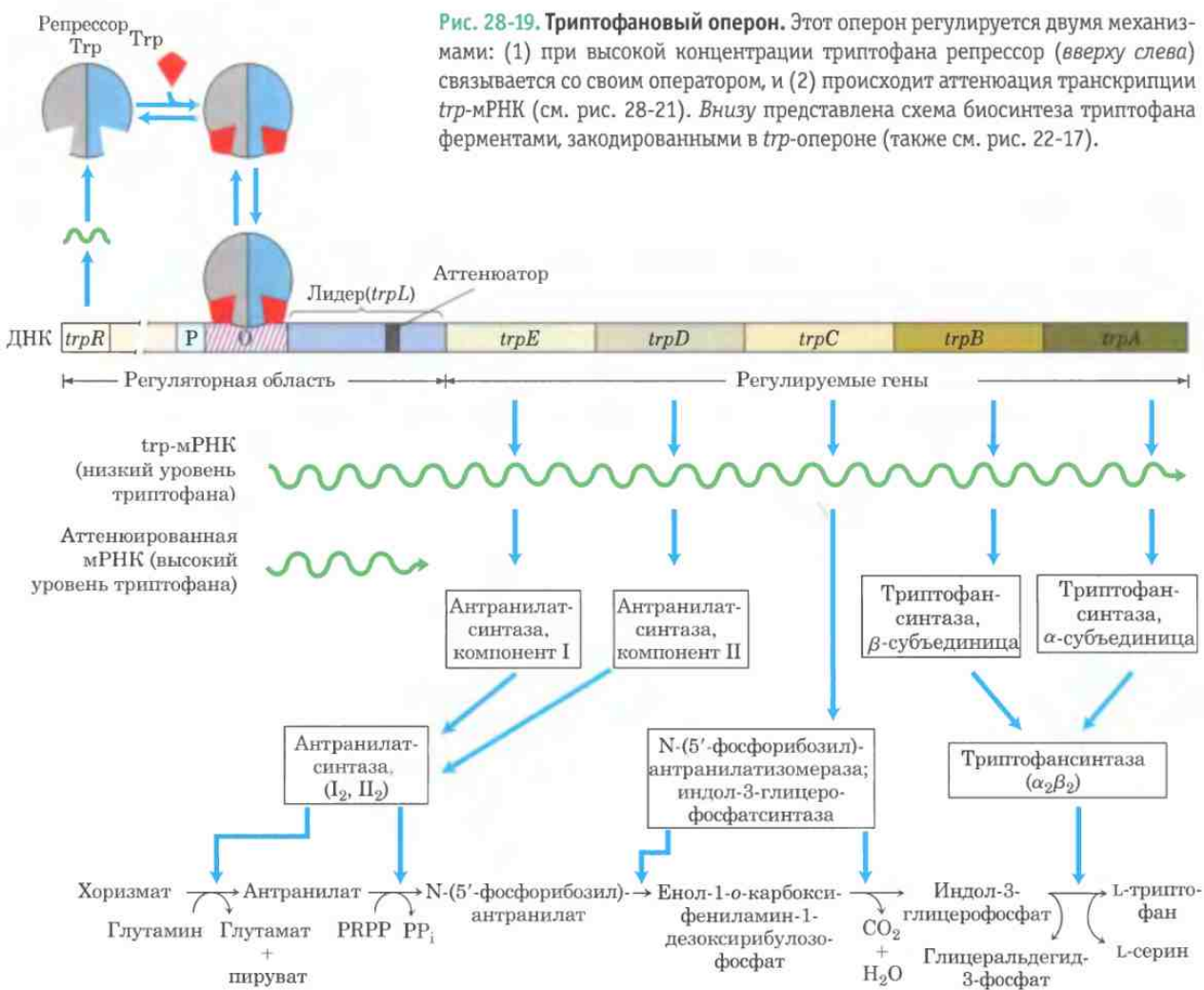
Многие гены ферментов биосинтеза аминокислот регулируются путем аттенуации транскрипции

Для синтеза белка требуются 20 незаменимых аминокислот в больших количествах. *E. coli* может синтезировать их все. Гены ферментов, необходимых для синтеза каждой аминокислоты, обычно образуют оперон и экспрессируются по мере необходимости. Если аминокислоты достаточно, ферменты биосинтеза не нужны и экспрессия оперона подавляется.

Триптофановый оперон (*trp*) *E. coli* содержит пять генов ферментов, необходимых для превращения хоризмата в триптофан (рис. 28-19). Два из этих ферментов катализируют более одного этапа биохимического пути. Время полужизни мРНК *trp*-оперона составляет лишь около трех минут, поэтому-то клетка может быстро реагировать на изменяющиеся потребности в этой аминокислоте. Trp-репрессор представляет собой гомодимер, каждая субъединица которого содержит 107 аминокислотных остатков (рис. 28-20). Когда триптофана много, он связывается с Trp-репрессором и изменяет его конформацию, что позволяет репрессору связаться с *trp*-оператором и блокировать экспрессию *trp*-оперона. Участок *trp*-оператора перекрывается с промотором, по-

этому связывание репрессора блокирует связывание РНК-полимеразы.

Опять-таки, такая простая схема опосредованного репрессором механизма включения/выключения экспрессии не описывает всю систему в полной мере. При колебании концентрации триптофана в клетке скорость синтеза ферментов этого пути биосинтеза меняется более чем в 700 раз. Когда действие репрессора ослабевает и начинается транскрипция, скорость транскрипции тонко регулируется с помощью второго процесса, называемого **аттенуацией транскрипции**, при котором транскрипция начинается в обычном порядке, но внезапно останавливается, не доходя до генов оперона. Аттенуация транскрипции регулируется наличием триптофана и основана на



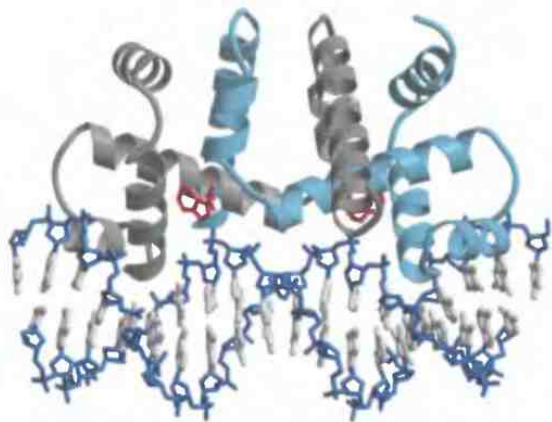


Рис. 28-20. Триптофанный репрессор. Репрессор представляет собой димер, обе субъединицы которого (серая и голубая) связываются с ДНК через мотивы спираль-поворот-спираль (1PDB 1D 1TRO). Связанные молекулы триптофана показаны красным цветом.

непосредственной связи транскрипции и трансляции в клетках бактерий.

Механизм аттенуации *trp*-оперона использует сигналы, закодированные в четырех последовательностях внутри 162-нуклеотидного **лидерного участка** на 5'-конце мРНК. предшествующего инициаторному кодону первого гена (рис. 28-21, а). Внутри лидерного участка находится так называемый **аттенюатор**, состоящий из последовательностей 3 и 4. Основания этих последовательностей спариваются с образованием G=C-богатой шпильки (стебель и петля), сразу за которой следует серия остатков U. Атенюатор выступает в роли терминатора транскрипции (рис. 28-21, б). Последовательность 2 также может спариваться с последовательностью 3 (рис. 28-21, в). Тогда аттенюатор не образуется, и гены ферментов биосинтеза триптофана нормально транскрибируются; петля, образующаяся при спаривании последовательностей 3 и 2, не мешает транскрипции.

Регуляторная последовательность 1 играет главную роль в механизме чувствительности к триптофану; она определяет, спаривается ли последовательность 3 с последовательностью 2 (что позволит продолжать транскрипцию) или с последовательностью 4 (что приведет к аттенуации транскрипции). Формирование шпильки зависит от событий, которые происходят при

трансляции регуляторной последовательности 1; она кодирует лидерный пептид (названный так, потому что он кодируется лидерной последовательностью мРНК), состоящий из 14 аминокислот, среди которых два остатка триптофана. Лидерный пептид не выполняет никаких других функций, его синтез нужен только для регуляции экспрессии оперона. Этот пептид транслируется сразу же после транскрипции на рибосоме, которая по мере продвижения транскрипции следует непосредственно за РНК-полимеразой.

Когда концентрация триптофана высокая, в клетке содержится много нагруженной триптофаном тРНК (Тгр-тРНК^{Тгр}). В таких условиях происходит быстрая трансляция двух кодонов Тгр в последовательности 1 и переход к трансляции последовательности 2 до того, как РНК-полимераза синтезирует последовательность 3. При этом последовательность 2 закрыта рибосомой и недоступна для спаривания с синтезируемой последовательностью 3. В результате при спаривании последовательностей 3 и 4 образуется аттенюатор, и транскрипция останавливается (рис. 28-21, б, *вверху*). Однако при низкой концентрации триптофана рибосома задерживается на двух кодонах Тгр в последовательности 1 из-за недостатка Тгр-тРНК^{Тгр}. В этом случае во время синтеза последовательности 3 последовательность 2 остается свободной, что приводит к их спариванию и продолжению транскрипции (рис. 28-21, б, *внизу*). Таким образом, по мере уменьшения концентрации триптофана уменьшается и вероятность аттенуации транскрипции.

Во многих других оперонах биосинтеза аминокислот также используется механизм аттенуации, позволяющий корректировать уровень синтеза ферментов в соответствии с текущими потребностями клетки. Лидерный пептид, образуемый *phe*-опероном, состоит из 15 аминокислот и содержит семь остатков Phe. Лидерный пептид *leu*-оперона содержит четыре расположенных подряд остатка Leu. Лидерный пептид *his*-оперона содержит семь расположенных подряд остатков His. Заметим, что механизм аттенуации в *his*-опероне и ряде других оперонов настолько чувствителен, что является **единственным** регуляторным механизмом соответствующего пути биосинтеза.

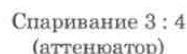
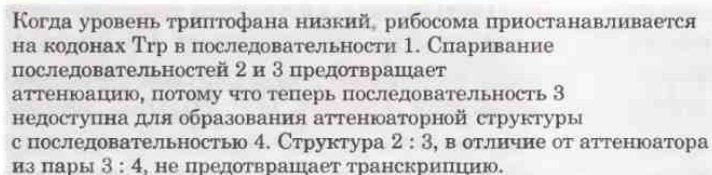
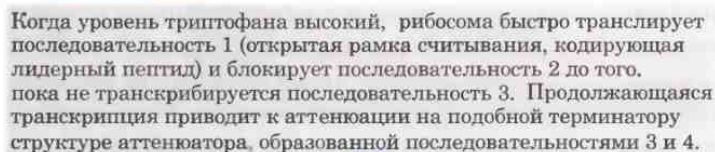


Рис. 28-21. Аттенуация транскрипции в *trp*-опероне. Транскрипция инициируется в начале 162-нуклеотидной лидерной последовательности мРНК, которая закодирована в так называемом *trpL*-участке ДНК (см. рис. 28-19). Существует механизм регуляции, который определяет, произойдет ли аттенуация транскрипции в конце лидерной последовательности или считывание продолжится в область структурных генов. *а* — лидерный участок *trp*-мРНК (*trpL*). В механизме аттенуации в *trp*-опероне задействованы последовательности 1–4 (выделены цветом). *б* — последовательность 1 кодирует небольшой лидерный пептид, содержащий два остатка Trp (W); он транслируется сразу же после начала транскрипции. Последовательности 2 и 3 комплементарны друг другу, как и последовательности 3 и 4. Аттенуатор формируется при спаривании последовательностей 3 и 4 (вверху). По структуре и функции он напоминает терминатор транскрипции (см. рис. 26-8). Спаривание последовательностей 2 и 3 (внизу) предотвращает формирование аттенуатора. Обратите внимание, что лидерный пептид не выполняет других функций в клетке. Трансляция его открытой рамки считывания играет исключительно регуляторную роль, определяя, какие комплементарные последовательности (2 и 3 или 3 и 4) образуют пары. *в* — спаривание комплементарных участков лидерной последовательности *trp*-мРНК.

При индукции SOS-ответа происходит разрушение репрессорных белков

Значительные повреждения ДНК в бактериальной хромосоме запускают индукцию многих генов, расположенных далеко друг от друга. Этот процесс, называемый SOS-ответом (разд. 25.2),

является еще одним хорошим примером координированной регуляции генов. Многие из индуцированных генов участвуют в репарации ДНК (см. табл. 25-6). Ключевые роли в этом процессе играют белок RecA и репрессор LexA.

Репрессор LexA ($M_r = 22\,700$) подавляет транскрипцию всех SOS-генов (рис. 28-22), по-

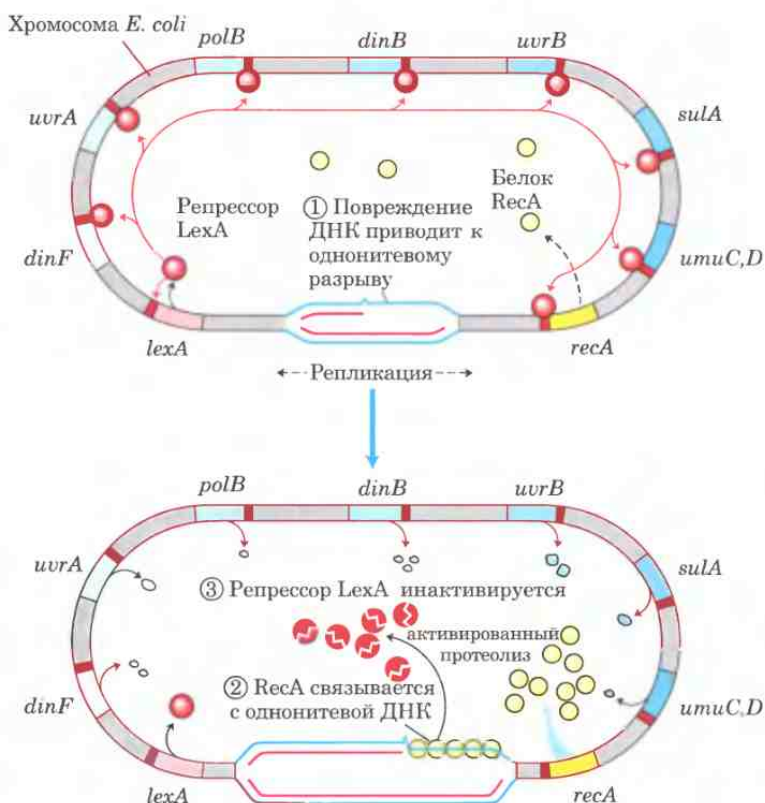


Рис. 28-22. SOS-ответ в клетках *E. coli*.

В табл. 25-6 перечислены функции многих генов SOS-ответа. Белок LexA выполняет функцию репрессора; его операторные участки (красные) расположены у каждого гена. Поскольку ген *recA* не полностью подавляется репрессором LexA, нормальная клетка содержит около 1000 мономеров RecA. ① При значительных повреждениях ДНК (например, под действием УФ-облучения), репликация ДНК останавливается, и число одноцепочечных разрывов в ДНК увеличивается. ② Белок RecA связывается с поврежденной одноцепочечной ДНК, что активирует его протеазную активность. ③ В связанном с ДНК состоянии белок RecA облегчает расщепление и инактивацию репрессора LexA. Инактивация репрессора приводит к индукции генов SOS-ответа, включая ген *recA*; концентрация RecA увеличивается в 50–100 раз.

этому индукция SOS-ответа требует удаления LexA. В данном случае происходит не просто отсоединение репрессора от ДНК в ответ на связывание небольшой молекулы, как в *lac*-опероне. Репрессор LexA инактивируется, катализируя собственное специфическое расщепление по пептидной связи Ala–Gly с образованием двух приблизительно равных по длине белковых фрагментов. При физиологическом значении pH для этой автокаталитической реакции расщепления необходим белок RecA. Этот белок не протеаза в классическом смысле, но его взаимодействие с LexA облегчает реакцию расщепления репрессора. Эту активность RecA иногда называют сопутствующей протеазной активностью.

Белок RecA обеспечивает функциональную связь между биологическим сигналом (повреждением ДНК) и индукцией SOS-генов. Значительное повреждение ДНК приводит к многочисленным одноцепочечным разрывам в ДНК, и только RecA, который связывается с одноцепочечной ДНК, может облегчить расщепление репрессора LexA (рис. 28-22, *внизу*). Связывание RecA в области разрыва, в конечном итоге, активирует его протеазную активность, что приводит к расщеплению репрессора LexA и индукции SOS-ответа.

При индукции SOS-ответа в сильно поврежденных клетках RecA также расщепляет и тем самым инактивирует репрессоры, которые поддерживают в спящем состоянии некоторые лизогенные вирусы, находящиеся в бактериальной клетке. Это замечательный пример эволюционной адаптации. Эти репрессоры, как и LexA, тоже расщепляют сами себя по специфической пептидной связи Ala–Gly, поэтому индукция SOS-ответа приводит к репликации вирусов и лизису клетки с высвобождением новых вирусных частиц. Так бактериофагу удастся «сбежать» из поврежденной клетки.

Синтез рибосомных белков происходит координированно с синтезом рРНК

Когда бактериальной клетке требуется больше белка, в ней не повышается активность каждой рибосомы, а увеличивается их общее число. С увеличением скорости роста клеток увеличивается и численность рибосом. При высокой

скорости роста клеток рибосомы составляют приблизительно 45% сухой клеточной массы. Ресурсы, предназначенные для производства рибосом, так велики, а функция рибосом так важна, что клеткам приходится координировать синтез компонентов рибосом — рибосомных белков и РНК (рРНК). Механизмы регуляции этого процесса отличаются от описанных выше механизмов, поскольку здесь регуляция осуществляется в основном на уровне *трансляции*.

Рибосомные белки кодируются 52 генами, которые расположены, как минимум, в 20 оперонах по 1–11 генов в каждом. Некоторые из этих оперонов также содержат гены субъединиц ДНК-праймазы (см. рис. 25-13), РНК-полимеразы (см. рис. 26-4) и факторов элонгации синтеза белка (см. рис. 27-28), что обеспечивает тесное сопряжение репликации, транскрипции и синтеза белка в процессе роста клетки.

Опероны рибосомных белков регулируются главным образом на уровне трансляции по механизму обратной связи. Один из рибосомных белков, кодируемых каждым опероном, функционирует как **репрессор трансляции**: он связывается с мРНК, транскрибируемой с данного оперона, и блокирует трансляцию всех генов, закодированных этой мРНК (рис. 28-23). Обычно рибосомный белок, который играет роль репрессора, сам связывается с рРНК. Каждый белок-репрессор трансляции связывается с соответствующей рРНК с более высоким сродством, чем со своей мРНК, поэтому связывание мРНК и подавление трансляции происходит только тогда, когда концентрация рибосомного белка превышает концентрацию рРНК. В результате трансляция мРНК рибосомных белков подавляется только тогда, когда уровень синтеза этих рибосомных белков превышает запросы для сборки функциональных рибосом. Таким образом, скорость синтеза рибосомных белков координирована с наличием рРНК.

Участок связывания репрессора трансляции с мРНК находится вблизи точки начала трансляции одного из генов оперона, обычно первого гена (рис. 28-23). В других оперонах это повлияло бы только на трансляцию этого конкретного гена, потому что в полицистронных мРНК бактерий большинство генов имеет независимые сигналы трансляции. Однако в оперонах рибосомных белков трансляция каждого гена зави-

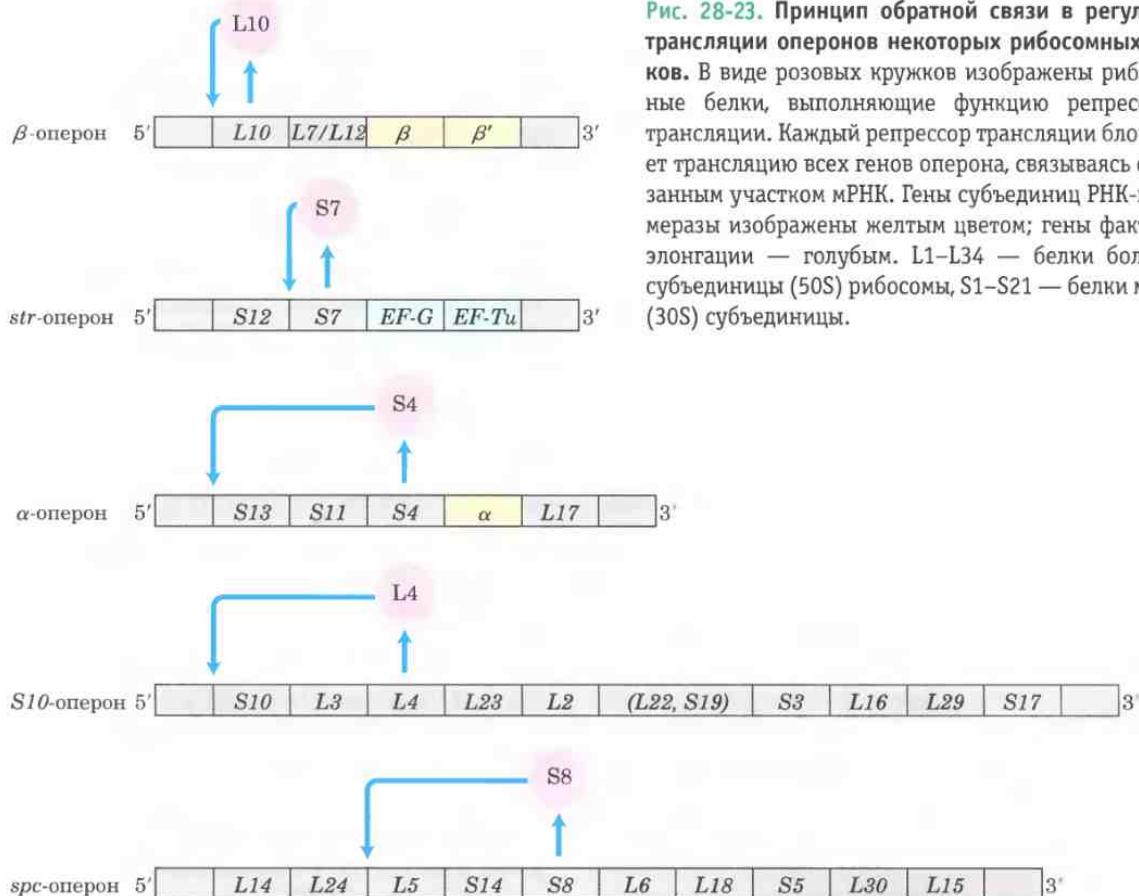
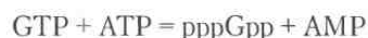


Рис. 28-23. Принцип обратной связи в регуляции трансляции оперонов некоторых рибосомных белков. В виде розовых кружков изображены рибосомные белки, выполняющие функцию репрессоров трансляции. Каждый репрессор трансляции блокирует трансляцию всех генов оперона, связываясь с указанным участком мРНК. Гены субъединиц рНК-полимеразы изображены желтым цветом; гены факторов элонгации — голубым. L1–L34 — белки большой субъединицы (50S) рибосомы, S1–S21 — белки малой (30S) субъединицы.

сит от трансляции всех остальных. Подробности механизма такого трансляционного сопряжения пока не ясны. В некоторых случаях трансляция многочисленных генов, по-видимому, блокируется из-за формирования сложной трехмерной структуры мРНК, которая стабилизируется при спаривании оснований внутри цепи (как на рис. 8-23) и связывании белка-репрессора трансляции. Когда репрессор трансляции отсутствует, связывание рибосомы и трансляция одного или нескольких генов разрушают трехмерную структуру мРНК, что позволяет транслироваться всем остальным генам.

Поскольку синтез рибосомных белков координирован с уровнем рННК, регуляция образования рибосом соотносится с регуляцией синтеза рННК. В клетках *E. coli* синтез рННК с семи оперонов коррелирует со скоростью клеточного роста и наличием основных питатель-

ных веществ, особенно аминокислот. Регуляцию, зависящую от концентрации аминокислот, называют **строгим ответом** (рис. 28-24). При низкой концентрации аминокислот синтез рННК останавливается. Аминокислотное голодание приводит к связыванию ненагруженных тРНК с А-сайтом рибосомы; это запускает цепь событий, которая начинается со связывания с рибосомой фермента, называемого **строгим фактором** (белком RelA). При связывании с рибосомой строгий фактор катализирует образование необычного нуклеотида (гуанозинтетрафосфата ppGpp, см. рис. 8-39) — пирофосфат присоединяется по 3'-положению в GTP:



и фосфогидролаза отщепляет один фосфат с образованием ppGpp. Резкое повышение уровня ppGpp при недостатке аминокислот приводит

к значительному снижению синтеза рРНК, отчасти вызванному связыванием ppGpp с РНК-полимеразой.

Как и сAMP, нуклеотид ppGpp относится к модифицированным нуклеотидам, которые действуют в клетке как вторичные мессенджеры (с. 427 в т. 1). В клетках *E. coli* эти два нуклеотида служат сигналами голодания; они вызывают значительные изменения клеточного метаболизма путем усиления или ослабления транскрипции сотен генов. В эукариотах нуклеотидные вторичные мессенджеры тоже выполняют многочисленные регуляторные функции. Координация роста клетки и ее метаболизма весьма сложна, и, несомненно, со временем нам станут известны и другие механизмы регуляции этих процессов.

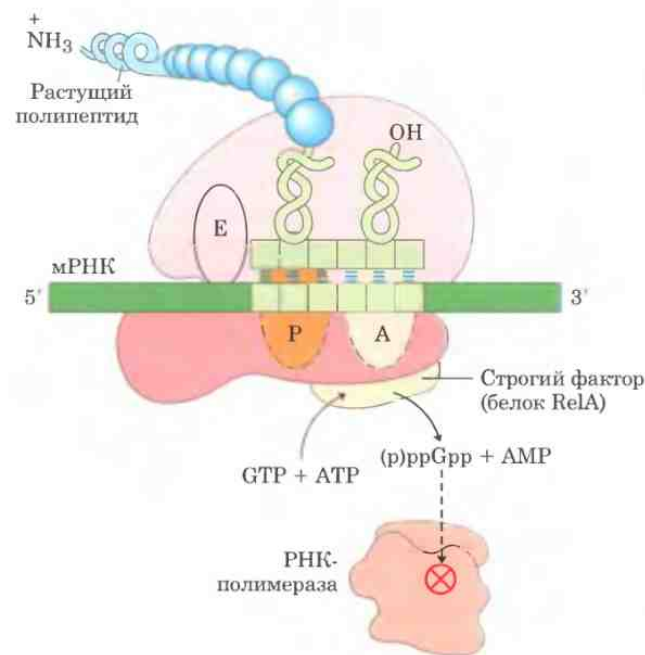


Рис. 28-24. Строгий ответ в клетках *E. coli*. Ответ на аминокислотное голодание запускается связыванием ненагруженной тРНК с А-сайтом рибосомы. Белок, называемый строгим фактором, связывается с рибосомой и катализирует синтез ppGpp, который под действием фосфогидролазы превращается в ppGpp. Сигнал ppGpp ослабляет транскрипцию одних генов и усиливает транскрипцию других, отчасти за счет связывания с β -субъединицей РНК-полимеразы и изменения специфичности промотора этого фермента. При увеличении концентрации ppGpp синтез рРНК ослабевает.

Функция некоторых мРНК регулируется малыми РНК по *цис*- или *транс*-механизму

Как неоднократно отмечалось в данной главе, белки играют важную и вполне понятную роль в регуляции экспрессии генов. Однако существенную роль играют и РНК, что становится все более очевидным по мере обнаружения новых примеров регуляторных РНК. Функцию только что синтезированной мРНК могут контролировать либо РНК-связывающие белки, как мы видели в случае оперонов рибосомных белков, либо другие типы РНК. С молекулой мРНК может связаться другая молекула РНК и регулировать ее активность; это так называемая *транс*-регуляция. Кроме того, сама молекула мРНК может регулировать свою функцию. Регуляция функций одной части молекулы под действием другой части той же молекулы называется *цис*-регуляцией.

Хорошо изученным примером *транс*-регуляции РНК является регуляция мРНК гена *rpoS* (**R**NA **p**olymerase **s**igma **f**actor), кодирующего σ^S — один из семи сигма-факторов *E. coli* (см. табл. 26-1). Клетки используют этот фактор в определенных стрессовых ситуациях, например в стационарной фазе (состояние, при котором клетка не растет из-за недостатка питательных веществ); σ^S необходим для транскрипции многих генов, участвующих в ответе на стресс. Почти в любых условиях мРНК фактора σ^S в небольшом количестве присутствует в клетке, но не транслируется, поскольку расположенная выше кодирующей области крупная шпилька препятствует связыванию с рибосомой (рис. 28-25). В некоторых стрессовых условиях происходит индукция одной или обеих специализированных малых РНК — DsrA (**d**ownstream **r**egion **A**) и RprA (**R**pos **r**egulator **R**NA **A**). Обе могут спариваться с одной цепью шпильки мРНК σ^S , разрушая ее структуру и тем самым позволяя осуществлять трансляцию *rpoS*. Еще одна малая РНК, OxyS (**o**xidative **s**tress **g**ene **S**), индуцируется в условиях окислительного стресса и ингибирует трансляцию *rpoS*, вероятно, путем спаривания с участком мРНК, ответственным за связывание с рибосомой. OxyS экспрессируется при клеточном ответе на другой тип стресса (окислительное повреждение), а не тот, за который отвечает *rpoS*, и задача этой РНК состоит в предотвращении ненужных в данный момент путей репарации. DsrA, RprA и OxyS пред-

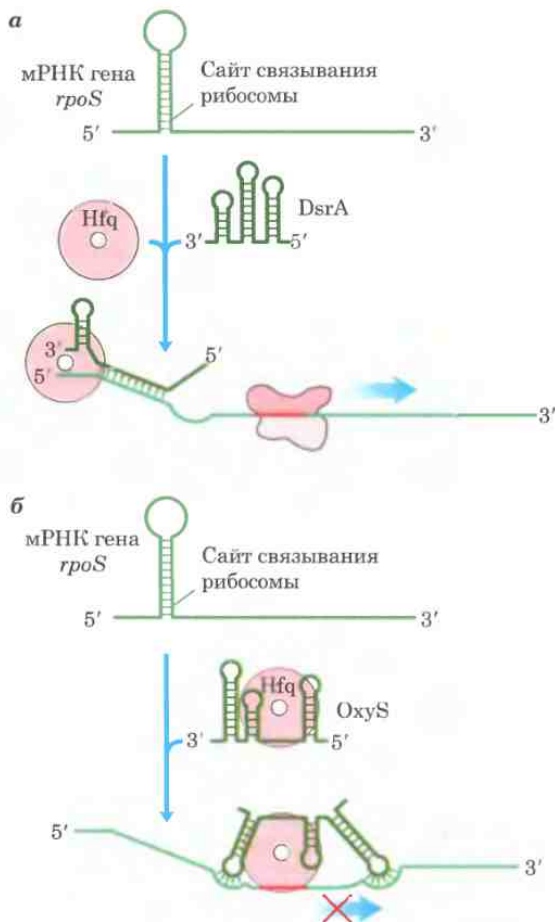


Рис. 28-25. транс-Механизм регуляции функций бактериальной мРНК под действием малых РНК. Некоторые малые РНК — DsrA, RprA и OxyS — участвуют в регуляции гена *groS*. Для проявления активности им нужен белок Hfq — РНК-шаперон, облегчающий образование РНК-дуплекса. Белок Hfq имеет геометрию тороида с порой в центре. **а** — DsrA стимулирует транскрипцию путем спаривания с одной цепью шпильки, что блокирует участок связывания рибосомы. Аналогичным образом действует RprA. **б** — OxyS блокирует трансляцию, спариваясь с участком связывания рибосомы.

ставляют собой сравнительно небольшие (менее 300 нуклеотидов) молекулы бактериальной РНК (в эукариотах существуют другие малые РНК, которым соответствуют другие обозначения). Всем РНК для осуществления их функций требуется белок Hfq, т. е. РНК-шаперон, облегчающий образование пар РНК–РНК. Бактериальных генов, регулируемых таким образом, известно немного — всего несколько десятков. Однако эти примеры служат прекрасными модельными

системами для изучения более сложных и более многочисленных случаев опосредованной РНК регуляции в эукариотах.

В регуляции по *цис*-механизму задействованы РНК, относящиеся к классу так называемых «**рибопереключателей**». Как говорилось в доп. 26-3, аптамерами называют синтезируемые *in vitro* молекулы РНК, которые способны специфическим образом связываться с определенными лигандами. Как можно ожидать, такие лиганд-связывающие домены в молекулах РНК существуют и в природе (в рибопереключателях) во многих бактериальных мРНК (и даже в некоторых мРНК эукариот). Эти природные аптамеры представляют собой структурные домены, расположенные в нетранслируемых участках на 5'-конце некоторых бактериальных мРНК. Связывание такого домена со специфическим лигандом приводит к изменениям конформации молекулы мРНК, в результате чего происходит либо остановка транскрипции, обусловленная стабилизацией структуры, вызывающей преждевременную остановку транскрипции, либо остановка трансляции (по *цис*-механизму) в результате блокирования участка связывания рибосомы (рис. 28-26). В большинстве случаев рибопереключатели действуют по механизму обратной связи. Многие регулируемые таким образом гены участвуют в синтезе или транспорте лигандов, связывающихся с рибопереключателями. Таким образом, при высокой концентрации лиганда рибопереключатели ингибируют экспрессию генов, необходимых для пополнения содержания этого лиганда.

Каждый рибопереключатель связывается лишь с одним лигандом. Обнаружено более 10 видов рибопереключателей, которые реагируют на такие лиганды, как тиаминпирофосфат (ТРП, витамин B₁), кобаламин (витамин B₁₂), флавиномононуклеотид, лизин, S-аденозинметионин (adoMet), пурины, N-ацетилглюкозамин-6-фосфат и глицин. Вполне вероятно, что в будущем будут найдены и другие рибопереключатели. По-видимому, наиболее распространен рибопереключатель, реагирующий на ТРП. Он обнаружен во многих бактериях, грибах и в некоторых растениях. У некоторых бактерий этот участок ингибирует трансляцию, а в других индуцирует преждевременную остановку транскрипции (рис. 28-26). В эукариотах ТРП-связывающий рибопереключатель обнаружен в интронах не-

которых генов; его функция состоит в модуляции альтернативного сплайсинга этих генов (см. рис. 26-22). Пока неизвестно, насколько распространены такие структуры. По некоторым оценкам, рибопереклюатели регулируют экспрессию более 4% генов бактерии *Bacillus subtilis*.

 По мере расширения знаний о рибопереклюателях ученые стали находить им медицинское применение. Например, большинство описанных на настоящий момент рибопереклюателей, включая тот, что реагирует на сигнал *adoMet*, обнаружено только в бактериях. Лекарственный препарат, связывающийся с этим переклюателем и активирующий его, мог

бы отключать гены ферментов, синтезирующих и транспортирующих *adoMet*, лишая бактериальные клетки этого важного кофактора. Лекарства подобного типа, возможно, станут антибиотиками нового поколения. ■

Открытия новых функциональных типов РНК продолжают подтверждать гипотезу о важной роли РНК в эволюции жизни (гл. 26). Малые РНК и рибопереклюатели, подобно рибозимам и рибосомам, возможно, представляют собой рудименты, оставшиеся из далекого прошлого мира РНК, которые до сих пор функционируют в современной биосфере. Лабораторный скрининг аптамеров и рибозимов с новыми лиганд-связывающими и каталитическими функциями (см. доп. 26-3) показывает, что РНК может обладать активностями, необходимыми для существования жизнеспособного мира РНК. Открытие многих типов РНК с одинаковыми функциями в различных живых организмах говорит о том, что должны существовать ключевые элементы метаболизма на основе РНК. Например, природные аптамеры (рибопереклюатели) могут происходить из молекул РНК, которые миллиарды лет назад связывались с кофакторами, участвовавшими в каталитических процессах метаболизма в мире РНК.

Некоторые гены регулируются путем генетической рекомбинации

Теперь мы обратимся к рассмотрению другого типа регуляции бактериальных генов, происходящей на уровне перестройки ДНК, — рекомбинации. Бактерия *Salmonella typhimurium*, которая может поселиться в кишечнике млекопитающих, передвигается благодаря вращению находящихся на поверхности клетки жгутиков (рис. 28-27). Многочисленные копии белка флагеллина ($M_r = 53\,000$), из которых образованы жгутики, являются мишенью для атаки иммунной системы млекопитающих. Но клетки *Salmonella* выработали механизм, предохраняющий их от уничтожения иммунной системой: примерно через каждую тысячу поколений они переключаются с синтеза одного варианта флагеллина на другой (FljB и FljC) при помощи процесса, называемого **фазовой вариацией**.

Переключение достигается путем периодической инверсии участка ДНК, содержащего промотор гена флагеллина. Инверсия осуществляется

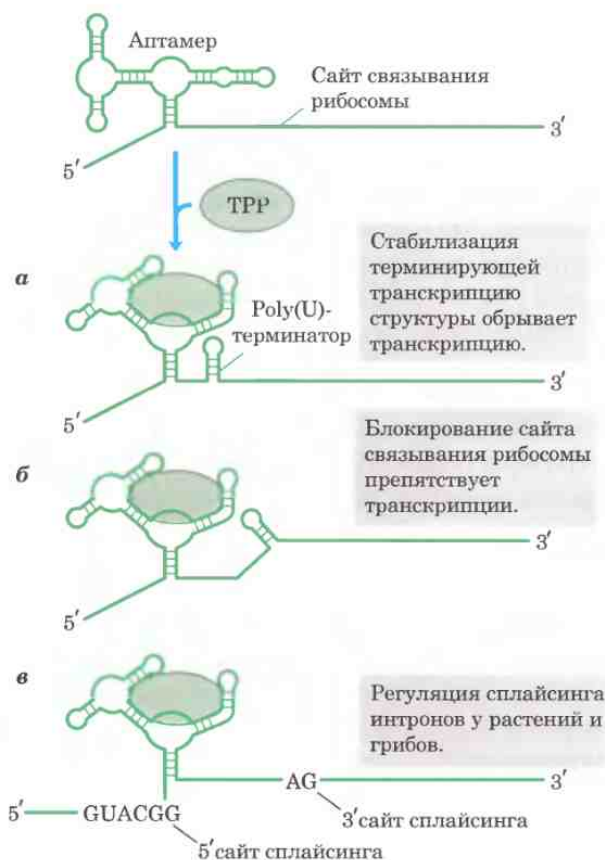


Рис. 28-26. цис-Механизм регуляции функций бактериальной мРНК при участии рибопереклюателей. Несколько примеров различных рибопереклюателей, действие которых основано на связывании распространенного природного аптамера с тиаминпирофосфатом. Связывание тиаминпирофосфата (TPP) с аптамером приводит к изменению конформации с различными последствиями, как показано на рис. (а–в).

по механизму сайт-специфической рекомбинации (см. рис. 25-41) и происходит под действием рекомбиназы *Hin* в определенной последовательности из 14 п. н. (последовательность *his*) на любом конце упомянутого участка ДНК. Когда этот участок находится в одной ориентации, происходит экспрессия гена флагеллина *FljB* и гена репрессора *FljA* (рис. 28-28, а); репрессор блокирует экспрессию гена флагеллина *FliC*. Когда участок ДНК перевернут (рис. 28-28, б), гены *fljA* и *fljB* больше не транскрибируются, и при исчерпании репрессора происходит индукция гена *fliC*. Рекомбиназа *Hin*, кодируемая геном *hin* в инвертируемом участке, экспрессируется при любой его ориентации, по-

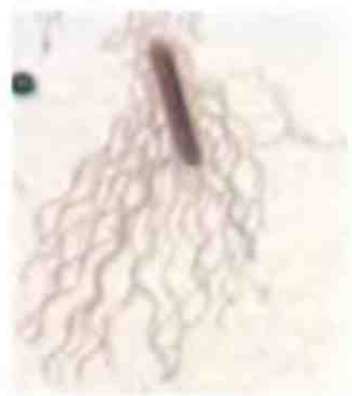


Рис. 28-27. *Salmonella typhimurium* с множеством жгутиков.

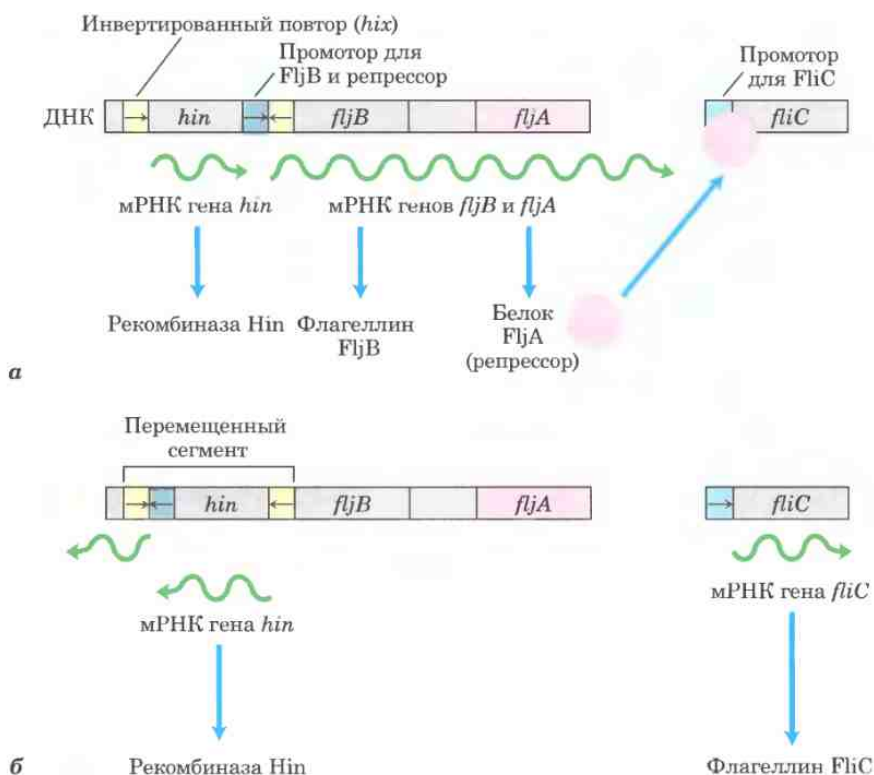


Рис. 28-28. Регуляция генов флагеллинов сальмонеллы: фазовая вариация. Продукты генов *fliC* и *fljB* — различные флагеллины. Ген *hin* кодирует рекомбиназу, катализирующую инверсию участка ДНК, содержащего промотор *fljB* и ген *hin*. Сайты рекомбинации (инвертированные повторы) названы *hix* (желтые). **а** — в одной ориентации экспрессируется ген *fljB* вместе с репрессорным белком (продуктом гена *fljA*), который подавляет транскрипцию гена *fliC*. **б** — в противоположной ориентации экспрессируется только ген *fliC*; гены *fljA* и *fljB* не могут транскрибироваться. В переключении между этими двумя состояниями, называемых фазовой вариацией, также участвуют два неспецифических ДНК-связывающих белка — HU и FIS (не показаны).

Таблица 28-1 Примеры регуляции генов путем рекомбинации

Система	Рекомбиназа/ сайт рекомбинации	Тип рекомбинации	Функция
Фазовая вариация (<i>Salmonella</i>)	Hin/hix	Сайт-специфическая	Альтернативная экспрессия двух генов флагеллина позволяет избежать иммунного ответа хозяина
Круг хозяев (бактериофаг μ)	Gin/gix	Сайт-специфическая	Альтернативная экспрессия двух наборов генов хвостового отростка позволяет менять круг хозяев
Переключение типов спаривания (дрожжи)	Эндонуклеаза HO, белок RAD52, другие белки/MAT	Нереципрокная ^a	В результате альтернативной экспрессии группы генов образуются клетки дрожжей с разными типами спаривания α и α , которые могут спариваться и подвергаться мейозу
Антигенная вариация (трипаномы) ^b	Разные	Нереципрокная ^a	Последовательная экспрессия различных генов, кодирующих варибельные поверхностные гликопротеины (VSG), позволяет избежать иммунного ответа хозяина

^a При нереципрокной рекомбинации (этот тип рекомбинации не обсуждался в гл. 25) генетическая информация перемещается из одной части генома (где она «молчит») в другую (где она экспрессируется). Этот процесс напоминает репликативную транспозицию (см. рис. 25-45).

^b Трипаномы вызывают африканскую сонную болезнь и другие заболевания (см. доп. 22-3 в т. 2). Внешняя поверхность трипаномы состоит из многочисленных копий одного только VSG, главного поверхностного антигена. Поверхностные антигены могут принимать до 100 различных форм, избегая атаки иммунной системы хозяина.

этому клетка всегда может переключиться из одного состояния в другое.

Преимущество этого типа регуляции заключается в его однозначности: экспрессия гена невозможна, когда ген физически отделен от своего промотора (обратите внимание на положение промотора *fljB* на рис. 28-28, б). Абсолютное включение/выключение экспрессии важно по той причине, что жгутик, содержащий хотя бы одну копию «неправильного» флагеллина, может оказаться уязвимым для антител хозяина против этого белка. Такая система существует отнюдь не только в клетках сальмонеллы. Подобные схемы регуляции есть у ряда других бактерий и некоторых бактериофагов; системы рекомбинации с похожими функциями найдены и в эукариотах (табл. 28-1). Регуляция генов путем перестановок в ДНК, в результате которых происходят перемещения генов и/или промоторов, особенно распространена у патогенов, которые получают возможность менять хозяев или менять состав своих поверхностных белков, опережая иммунную систему хозяина.

Краткое содержание раздела 28.2 РЕГУЛЯЦИЯ ЭКСПРЕССИИ ГЕНОВ У БАКТЕРИЙ

■ *Lac*-оперон *E. coli* не только подавляется *Lac*-репрессором, но и подвергается положительной регуляции cAMP-рецепторным белком (CRP). Когда концентрация глюкозы низкая, концентрация cAMP высокая, и комплекс CRP-cAMP связывается со специфическим участком ДНК, стимулируя транскрипцию *lac*-оперона и образование ферментов метаболизма лактозы. При наличии глюкозы концентрация cAMP снижается, что ослабляет экспрессию *lac* и других генов, участвующих в метаболизме вторичных сахаров. Группа координированно регулируемых оперонов называется регулоном.

■ Опероны, в которых закодированы ферменты биосинтеза аминокислот, подчиняются регуляторному механизму, называемому аттенуацией; в этом механизме задействован участок терминации транскрипции (атте-

нюатор) в мРНК. Образование аттенюатора модулируется путем сопряжения транскрипции и трансляции и зависит от небольших изменений концентрации аминокислот.

- Действие SOS-системы заключается в одно-временной индукции множества несвязанных генов, подавляемых одним репрессором; повреждение ДНК при посредничестве белка RecA запускает автокаталитический протеолиз репрессора.
- При синтезе рибосомных белков один белок в каждом опероне рибосомных белков действует как репрессор трансляции. Он связывается с мРНК и блокирует трансляцию, только когда находится в избытке к рРНК.
- Посттранскрипционная регуляция некоторых мРНК опосредована малыми РНК, которые действуют по *транс*-механизму, или частями самой мРНК (рибопереключателями), которые действуют по *цис*-механизму.
- Некоторые гены регулируются с помощью генетической рекомбинации, в результате которой промоторы перемещаются относительно регулируемых генов. Кроме того, регуляция может происходить на уровне трансляции.

28.3. Регуляция экспрессии генов у эукариот

Инициация транскрипции — ключевая точка в регуляции экспрессии генов в любых организмах. Несмотря на то что у эукариотов и бактерий некоторые механизмы регуляции одинаковые, регуляция транскрипции у них принципиально различается.

Можно определить базовый уровень транскрипции как активность промоторов и всего механизма транскрипции *in vivo* в отсутствие регуляторных последовательностей. Бактериальная РНК-полимераза обычно имеет доступ к любому промотору и может связываться с ним и иницировать транскрипцию с некоторой эффективностью без помощи активаторов и репрессоров; следовательно, транскрипция носит пермиссивный характер. Однако обычно у эукариот силь-

ные промоторы *in vivo* неактивны в отсутствие регуляторных белков, т. е. это непермиссивная транскрипция. Это принципиальное различие является причиной, как минимум, четырех важных особенностей регуляции экспрессии эукариотических генов.

Во-первых, у эукариот доступ к промоторам ограничен строением хроматина, и активация транскрипции связана со многими изменениями структуры хроматина в транскрибируемом участке. Во-вторых, хотя у эукариотических клеток есть как положительные, так и отрицательные регуляторные механизмы, положительные механизмы преобладают во всех охарактеризованных до сих пор системах. Таким образом, с учетом непермиссивного характера транскрипции, чтобы прошла транскрипция любого эукариотического гена, нужна активация. В-третьих, по сравнению с бактериями эукариоты имеют более крупные и сложно устроенные регуляторные белки, как правило, состоящие из нескольких субъединиц. Наконец, в-четвертых, транскрипция в ядрах эукариот отделена от трансляции в цитоплазме как во времени, так и в пространстве.

Как мы увидим далее, в эукариотических клетках схемы регуляции очень сложны. Мы завершим этот раздел описанием одной из наиболее подробно исследованных схем регуляции — схемы регуляторного каскада, который контролирует развитие дрозофилы.

Транскрипционно активный хроматин по структуре отличается от неактивного хроматина

Влияние структуры хромосом на регуляцию генов эукариот не имеет очевидной аналогии в клетках бактерий. В клеточном цикле эукариот интерфазные хромосомы на первый взгляд кажутся дисперсными и аморфными (см. рис. 12-43 в т. 1, рис. 24-25). Тем не менее в таких хромосомах можно обнаружить несколько форм хроматина. В типичной эукариотической клетке около 10% хроматина находится в более конденсированной форме, чем остальной хроматин. Это транскрипционно неактивный **гетерохроматин**. Гетерохроматин обычно связан со специальными структурами хромосомы, например с центромерами. Остальной менее конденсированный хроматин называется **эухроматином**.

Транскрипция эукариотических генов внутри гетерохроматина подавлена. Напротив, некоторая часть эухроматина (но не весь) активно транскрибируется. Транскрипционно активные области хромосом характеризуются не только более свободной структурой хроматина, но также наличием нуклеосом особого состава и вида. В транскрипционно активном хроматине обычно содержится меньше гистона H1, который связывается с линкерной ДНК между нуклеосомами, но больше вариантов H3.3 и H2AZ (см. доп. 24-2).

Гистоны из транскрипционно активного хроматина и гетерохроматина также отличаются по характеру ковалентной модификации. Гистоны из ядра нуклеосомной частицы (H2A, H2B, H3, H4; см. рис. 24-27) модифицируются путем метилирования остатков Lys, фосфорилирования остатков Ser или Thr, ацетилирования (см. ниже), убиквитинирования (см. рис. 27-47) или сумоилирования. Все гистоны нуклеосомного ядра имеют два разных структурных домена. Центральный домен участвует во взаимодействии между гистонами и в оборачивании ДНК вокруг нуклеосомы. Второй, богатый лизином N-концевой домен обычно располагается ближе к внешней стороне собранной нуклеосомной частицы; ковалентным модификациям подвергаются специфические аминокислотные остатки именно этого домена. Характер модификаций позволяет предполагать существование гистонного кода, с помощью которого эти модификации узнаются ферментами, изменяющими структуру хроматина. Модификации, связанные с активацией транскрипции (главным образом, метилирование и ацетилирование), могли бы узнаваться ферментами, которые делают хроматин более доступным для транскрипции. И в самом деле некоторые из этих модификаций необходимы для взаимодействия с белками, выполняющими важные функции при транскрипции.

Для эукариотической ДНК характерно метилирование остатков цитозина в последовательностях CpG по пятому положению (с. 419 в т. 1), но ДНК из транскрипционно активного хроматина часто слабо метилирована. Кроме того, сайты CpG в определенных генах слабее метилированы в клетках тех тканей, где эти гены экспрессируются, чем там, где они не экспрессируются. Таким образом, подготовка хроматина к транскрипции происходит путем удаления возможных структурных преград.

Хроматин ремоделируется путем ацетилирования и перемещения нуклеосом

Связанные с транскрипцией изменения в структуре хроматина происходят в процессе **ремоделирования хроматина**. В ремоделировании участвуют ферменты, которые катализируют процессы модификации. Некоторые ферменты ковалентно модифицируют гистоны нуклеосомы. Другие ферменты используют химическую энергию АТФ для перестановки нуклеосом на ДНК (табл. 28-2); третьи изменяют состав гистонов в нуклеосомах.

Ацетилирование и деацетилирование гистонов играет очень важную роль в процессах активации хроматина. Как отмечалось выше, N-концевые домены гистонов в ядре нуклеосомы обычно обогащены остатками Lys и Arg. В ходе транскрипции гистон H3 метилируется (под действием специфических гистонметилаз) по остатку Lys⁴ в нуклеосоме вблизи 5'-конца кодирующей области и по остатку Lys³⁶ внутри кодирующей области. Метилирование облегчает связывание **гистонацетилтрансфераз (НАТ** — от англ. *histone acetyltransferases*), которые ацетируют определенные остатки лизина. Цитоплазматические НАТ (тип В) ацетируют вновь синтезированные гистоны до того, как они поступают из цитоплазмы в ядро. Последующее встраивание гистонов в хроматин после репликации облегчается шаперонами гистонов: CAF1 для H3 и H4 и NAP1 для H2A и H2B (см. табл. 24-2).

В тех участках, где хроматин активируется для транскрипции, гистоны нуклеосом далее ацетируются под действием ядерных НАТ (тип А). Ацетилирование многочисленных остатков Lys в N-концевых доменах гистонов H3 и H4 может уменьшать сродство к ДНК всей нуклеосомы. Ацетилирование специфических остатков Lys играет ключевую роль во взаимодействиях нуклеосом с другими белками. Когда транскрипция гена больше не нужна, в ходе общего процесса сайленсинга (отключения) генов, который возвращает хроматин в транскрипционно неактивное состояние, под действием **гистондеацетилазной (HDAC** — от англ. *histone deacetylases*) активности ацетилирование нуклеосом в этом участке ослабевает. Наряду с удалением определенных ацетильных групп происходит новая ковалентная модификация гистонов,

Таблица 28-2 Некоторые ферментные комплексы, катализирующие связанные с транскрипцией структурные изменения хроматина

Ферментный комплекс ^a	Олигомерная структура (количество полипептидов)	Источник	Функции
Модификация гистонов			
GCN5-ADA2-ADA3	3	Дрожжи	GCN5 имеет активность HAT (тип A)
SAGA/PCAF	>20	Эукариоты	Включает GCN5-ADA2-ADA3; ацетилюет остатки в H3 и H2B
NuA4	не менее 12	Эукариоты	Компонент EsaI имеет активность HAT; ацетилюет H4, H2A и H2AZ
Перемещение и замена гистонов (с затратой ATP)			
SWI/SNF	≥ 6; общая $M_r = 2 \cdot 10^6$	Эукариоты	Ремоделирование нуклеосом; активация транскрипции
Семейство ISWI	Различная	Эукариоты	Ремоделирование нуклеосом; подавление транскрипции; в некоторых случаях активация транскрипции (NURF)
Семейство SWR1	~12	Эукариоты	Связывание H2AZ
Шапероны гистонов, которым не требуется ATP			
HIRA	1	Эукариоты	Связывание H3.3 в ходе транскрипции

^a Смысл сокращенных названий эукариотических генов и белков гораздо менее очевиден, чем генов бактерий. Комплекс белков GCN5 (от англ. *general control nonderepressible*) и ADA (*alteration/deficiency activation*) был открыт при изучении генов метаболизма азота в дрожжах. Эти белки могут быть частью более крупного дрожжевого комплекса SAGA (*SPF; ADA2,3; GCN5; acetyltransferase*). Человеческий эквивалент SAGA — PCAF (*p300/CBP-associated factor*). NuA4 (*nucleosome acetyltransferase H4*) — нуклеосомная ацетилтрансфераза H4, ESA1 (*essential SAS2-related acetyltransferase*) — ацетилтрансфераза, родственная SAS2. Белковый фактор SWI (*switching*) необходим для экспрессии определенных генов, участвующих в переключении типа спаривания у дрожжей, а SNF (*sucrose nonfermenting*) — регулятор экспрессии дрожжевого гена сахаразы. Впоследствии были обнаружены многочисленные белки SWI и SNF, действующие в комплексе. Комплекс SWI/SNF играет роль в экспрессии широкого круга генов; он обнаружен у многих эукариот, включая человека. ISWI (*imitation SWI*) — имитация SWI, NURF (*nuclear remodeling factor*) — ядерный ремоделирующий фактор, SWR1 (*Swi2/Snf2-related ATPase 1*) — связанная с Swi2/Snf2 АТРаза 1; HIRA (*histone regulator A*) — регулятор гистонов A.

которая маркирует хроматин как транскрипционно неактивный. Например, часто в гетерохроматине остаток Lys⁹ гистона H3 метилирован.

Известно пять семейств ферментных комплексов, которые активным образом перемещают нуклеосомы при гидролизе ATP; три из них играют важную роль в активации транскрипции (табл. 28-2). Комплекс SWI/SNF, обнаруженный во всех эукариотических клетках, содержит не менее шести центральных полипептидов, которые вместе перестраивают хроматин таким образом,

что нуклеосомы располагаются менее регулярно, и стимулируют связывание факторов транскрипции. В состав комплекса вблизи С-конца активной АТРазной субъединицы входит специализированный белковый домен, называемый бромодоменом, который взаимодействует с ацетилированными гистоновыми «хвостами». Комплекс SWI/SNF требуется для транскрипции не всех генов. Комплекс NURF из семейства ISW1 также перестраивает хроматин, дополняя и перекрывая активность SWI/SNF. Эти два ферментных комплекса играют

ключевые роли в подготовке участка хроматина к активной транскрипции. Некоторые представители третьего семейства комплексов, **SWR1**, участвуют в связывании варианта гистона H2AZ с транскрипционно активным хроматином.

Некоторые представители других семейств преобразующих хроматин ферментов осуществляют перегруппировку нуклеосом в хроматине в процессе сайленсинга (отключения) генов. Общий результат перестройки хроматина — повышение доступности участка хромосомы и его «мечение» (химическая модификация) для облегчения связывания и действия транскрипционных факторов, регулирующих экспрессию гена (или генов) в этой области.

Многие эукариотические промоторы подвергаются положительной регуляции

Как уже отмечалось, эукариотические РНК-полимеразы имеют небольшое сродство к своим промоторам (или не имеют его совсем), поэтому инициация транскрипции почти всегда зависит от действия многочисленных активаторных белков. Одна важная причина явного доминирования положительной регуляции кажется очевидной — сохранение ДНК внутри хроматина обеспечивает недоступность большинства промоторов, поэтому в отсутствие других регуляторных механизмов гены не экспрессируются. Структура хроматина делает одни промоторы более доступными, чем другие, и репрессоры, которые связываются с ДНК и предотвращают доступ РНК-полимеразе (отрицательная регуляция) просто не нужны. Использование положительной регуляции объясняется и другими факторами, главным образом, двумя: гигантским размером эукариотического генома и более высокой эффективностью положительной регуляции по сравнению с отрицательной регуляцией.

В крупных геномах высших эукариот неспецифическое связывание регуляторных белков с ДНК становится серьезной проблемой. Кроме того, с увеличением размера генома повышается вероятность того, что отдельные специфические последовательности случайно могут оказаться в ненадлежащем месте. Специфичность активации транскрипции может быть повышена, если каждый белок-регулятор сначала связывает специфическую последовательность

ДНК, а затем уже образует активационный комплекс с другими белками. В многоклеточном организме среднее число регуляторных участков для каждого гена, по-видимому, не менее пяти. Необходимость связывания нескольких регуляторных белков со специфическими последовательностями ДНК значительно снижает вероятность случайного функционального совпадения всех задействованных участков связывания. В принципе подобная стратегия может реализовываться и для многочисленных элементов отрицательной регуляции, но тут играет роль вторая причина преимущественного использования положительной регуляции. Эта вторая причина — более высокая эффективность положительной регуляции. Для отрицательной регуляции ~29 000 генов человеческого генома каждая клетка должна была бы постоянно синтезировать такое же количество различных репрессоров (или намного больше, если каждый промотор регулируется несколькими элементами) в достаточно высокой концентрации, чтобы обеспечить специфичное связывание каждого «ненужного» гена. При положительной регуляции большинство генов обычно находится в неактивном состоянии (т. е. РНК-полимеразы не связываются с промоторами), и клетка синтезирует только белки-активаторы, необходимые для транскрипции группы генов, необходимых в данное время. Несмотря на эти аргументы, в эукариотах (от дрожжей до человека) все-таки встречаются примеры отрицательной регуляции, как мы увидим в дальнейшем.

ДНК-связывающие активаторы и ко-активаторы способствуют сборке основных факторов транскрипции

Продолжая наше исследование регуляции экспрессии генов эукариот, рассмотрим взаимодействия между промоторами и РНК-полимеразой II (Pol II), ответственной за синтез эукариотических мРНК. Хотя многие (но не все) промоторы Pol II содержат ТАТА-бокс и Inr (инициатор) в стандартных позициях (см. рис. 26-9), они сильно различаются и по числу, и по расположению дополнительных последовательностей, необходимых для регуляции транскрипции. В высших эукариотах эти дополнительные регуляторные последовательности называют **энхансерами**, а в дрожжах —

активирующими последовательностями UAS (от англ. *upstream activator sequences*). Типичный энхансер может находиться на сотни или даже тысячи пар оснований выше точки начала транскрипции, а иногда и ниже, т. е. в самом гене. Энхансер, связанный с соответствующими регуляторными белками, усиливает транскрипцию с соседних промоторов независимо от его ориентации в ДНК. Последовательности UAS в дрожжах действуют аналогичным образом, хотя обычно они располагаются на несколько сотен пар оснований выше точки начала транскрипции. Промотор Pol II может находиться под влиянием до полудюжины (в среднем) регуляторных последовательностей такого рода: часто встречаются и еще более сложные промоторы (см., например, рис. 15-23).

Успешное связывание активного холофермента РНК-полимеразы II на одном из его промоторов обычно обеспечивают дополнительные белки (рис. 28-29) четырех типов: (1) **активаторы транскрипции**, которые связываются с энхансерами или UAS и способствуют транскрипции; (2) описанные выше **белки модификации и ремоделирования хроматина**; (3) **ко-активаторы**; и (4) **основные факторы транскрипции** (см. рис. 26-10, табл. 26-2). Ко-активаторы действуют не напрямую (т. е. они не связываются с ДНК) и требуются для координации связи между активаторами и комплексом из Pol II и основных факторов транскрипции. Кроме того, во взаимодействии между РНК-полимеразой и активаторами могут вмешиваться разнообразные белки-репрессоры, что приводит к подавлению транскрипции (рис. 28-29, б). Далее мы подробнее рассмотрим белковые комплексы, изображенные на рис. 28-29, и их взаимодействия в процессе активации транскрипции.

Активаторы транскрипции. Разные промоторы сильно различаются по своим потребностям в активаторах. Известно несколько активаторов, которые способствуют транскрипции с сотен промоторов, но большинство специфично лишь к некоторым промоторам. Многие активаторы зависят от связывания сигнальных молекул, что позволяет активировать или подавить транскрипцию при изменении условий. Некоторые связывающиеся с активаторами энхансеры находятся далеко от ТАТА-боксов промотора. Как

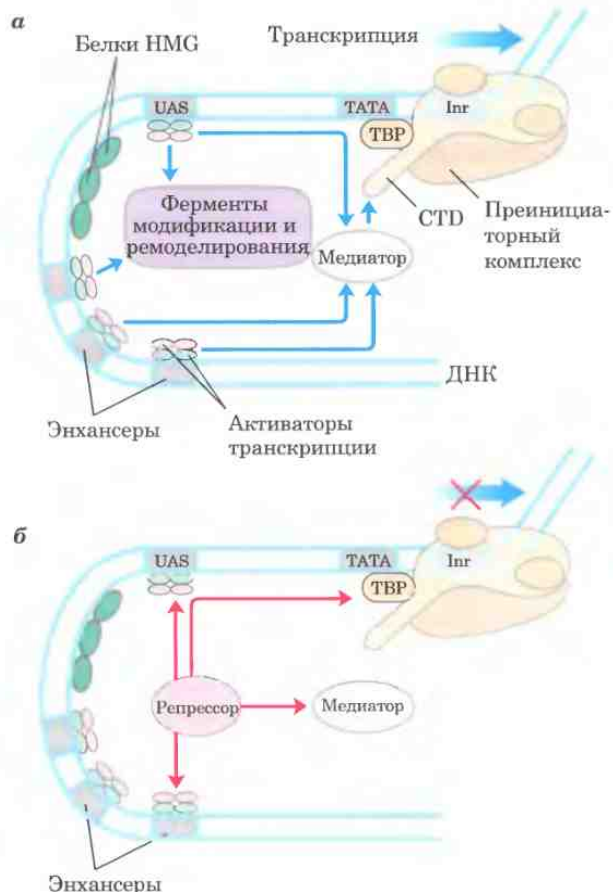


Рис. 28-29. Эукариотические промоторы и регуляторные белки. РНК-полимераза II и ассоциированные с ней основные факторы транскрипции образуют преинициаторный комплекс на последовательностях ТАТА-боксов и Инт в соответствующем промоторе; этому процессу способствуют активаторы транскрипции, действующие через медиатор. а — промотор с элементами типичных последовательностей и белковыми комплексами, существующими как в дрожжах, так и в высших эукариотах. С-концевой домен (CTD) Pol II (см. рис. 26-10) — важный участок взаимодействия с медиатором и другими белковыми комплексами. Ферменты модификации гистонов катализируют метилирование и ацетилирование; ферменты ремоделирования изменяют состав и расположение нуклеосом. ДНК-связывающие домены активаторов транскрипции изображены зеленым цветом, активирующие домены — розовым. Взаимодействия, обозначенные голубыми стрелками, обсуждаются в тексте. б — репрессоры транскрипции эукариот действуют посредством нескольких механизмов. Некоторые напрямую связываются с ДНК, вытесняя необходимый для активации белковый комплекс; другие предотвращают активацию, взаимодействуя с различными частями транскрипционных или активаторных комплексов. Возможные участки взаимодействия показаны красными стрелками.

действуют такие активаторы? В большинстве случаев, по-видимому, расположенная между этими последовательностями ДНК образует петлю, в результате чего различные белковые комплексы приходят в непосредственный контакт. Образованию петли способствуют некоторые негистоновые белки, которые в большом количестве содержатся в хроматине и неспецифическим образом связываются с ДНК. Эта группа белков с высокой электрофоретической подвижностью в полиакриламидном геле (**HMG** — от англ. *high mobility group*; рис. 28-29) играет важную роль в ремоделировании хроматина и активации транскрипции.

Ко-активаторные белковые комплексы. В большинстве случаев для протекания транскрипции требуются дополнительные белковые комплексы. Были проведены биохимические и генетические исследования некоторых важных комплексов регуляторных белков, которые взаимодействуют с Pol II. Эти ко-активаторные комплексы действуют как посредники между активаторами и комплексом Pol II.

Эукариотический ко-активатор состоит из 20–30 или более полипептидов, собранных в белковый комплекс, называемый **медиатором** (рис. 28-29). Многие из 20 полипептидов сердцевины этого комплекса высококонсервативны у разных видов организмов от грибов до человека. Дополнительный комплекс из четырех субъединиц может взаимодействовать с медиатором и подавлять инициацию транскрипции. Медиатор прочно связывается с С-концевым доменом (CTD) самой крупной субъединицы Pol II. Медиаторный комплекс необходим как для базовой, так и для регулируемой транскрипции с промоторов полимеразы II; он также стимулирует фосфорилирование CTD под действием основного транскрипционного фактора TFIID. Активаторы транскрипции взаимодействуют с одним или несколькими компонентами медиаторного комплекса, причем в строго определенных местах, различных для разных активаторов. Ко-активаторные комплексы функционируют в области ТАТА-бокса или поблизости.

Описаны и другие ко-активаторы, способствующие транскрипции одного или нескольких генов. Некоторые функционируют в паре с медиатором, а другие в системах без медиаторов.

ТАТА-связывающий белок. При сборке **преинициаторного комплекса (PIC** — от англ. *preinitiation complex*) в области ТАТА-бокса типичного промотора Pol II первым присоединяется **ТАТА-связывающий белок (TBP** — от англ. *TATA-binding protein*). В полный комплекс входят основные факторы транскрипции TFIIB, TFIIE, TFIIF, TFIIN, Pol II и, возможно, TFIIA. Однако этого минимального преинициаторного комплекса часто недостаточно для инициации транскрипции, если же промотор скрыт внутри хроматина, преинициаторный комплекс обычно вообще не образуется. Положительную регуляцию, приводящую к началу транскрипции, оказывают активаторы и ко-активаторы.

Согласованный механизм активации транскрипции. Теперь мы можем воссоздать всю последовательность событий активации транскрипции на типичном промоторе Pol II (рис. 28-30). Порядок связывания некоторых компонентов может различаться; представленная на рис. 28-30 модель отражает общие принципы активации на примере одного типичного варианта сборки. Многие активаторы транскрипции обладают значительным сродством к своим участкам связывания, даже если те находятся в области конденсированного хроматина. Связывание активаторов обычно приводит к активации промотора. Связывание одного активатора может облегчить связывание других, что постепенно приводит к вытеснению нескольких нуклеосом.

Далее происходит последовательное ремоделирование хроматина, чему способствует взаимодействие активаторов с НАТ или с ферментными комплексами, такими как SWI/SNF (или и с теми, и с другими). Таким образом, связанный активатор может вовлекать другие компоненты, необходимые при дальнейшем ремоделировании хроматина для транскрипции специфических генов. Связанные активаторы взаимодействуют с большим медиаторным комплексом. В свою очередь медиатор обеспечивает поверхность для связывания сначала ТВР (TFIID), затем TFIIB и других компонентов преинициаторного комплекса, включая РНК-полимеразу II. Медиатор стабилизирует связывание Pol II и соответствующих транскрипционных факторов и значительно облегчает формирование преинициаторного комплекса. Сложность таких регуляторных схем

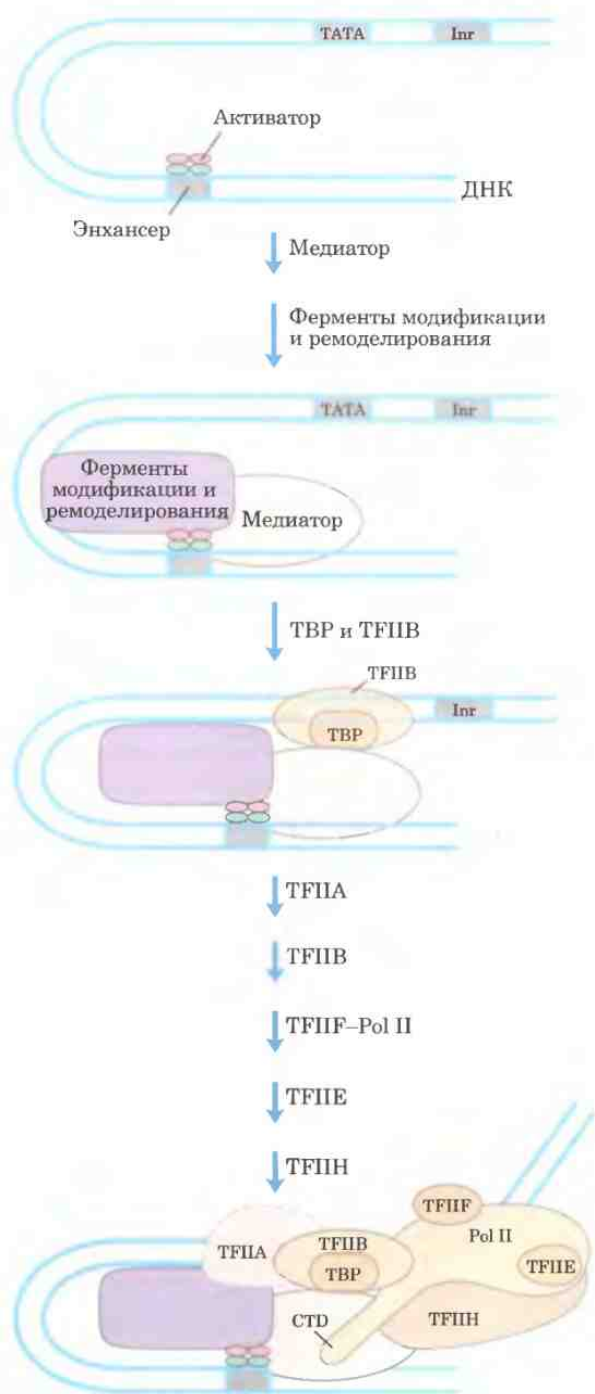


Рис. 28-30. Элементы, необходимые для активации транскрипции. Активаторы сначала могут связываться с ДНК. Затем они вовлекают в процесс медиатор и комплексы модификации гистонов/перестройки нуклеосом. Медиатор облегчает связывание ТБР и ТFIIB, а также других основных факторов транскрипции, после чего связывается Pol II. Фосфорилирование С-концевого домена (CTD) Pol II приводит к инициации транскрипции (не показано).

с многочисленными активаторами транскрипции скорее правило, чем исключение.

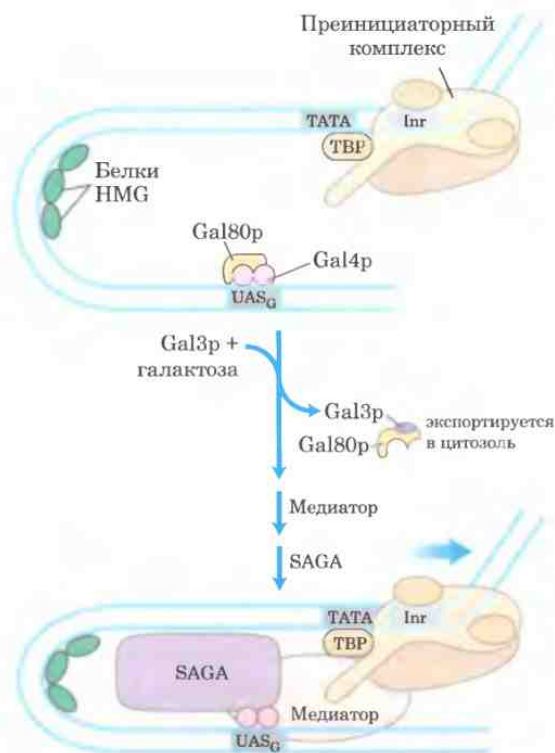
Детали процесса могут различаться для разных промоторов, но большинству промоторов для начала транскрипции требуется строго упорядоченная сборка всех компонентов. Процесс сборки не всегда проходит быстро. Для некоторых генов он может длиться минуты, а для некоторых генов высших эукариот — даже сутки.

Обратимость активации транскрипции. Хотя и редко, некоторые эукариотические регуляторные белки, которые связывают промоторы Pol II, могут действовать как репрессоры, ингибируя образование активных преинициаторных комплексов (рис. 28-29, б). Некоторые активаторы могут находиться в различных конформациях, что позволяет им быть либо активаторами, либо репрессорами транскрипции. Например, рецепторы некоторых стероидных гормонов (см. ниже) действуют в ядре как активаторы, стимулирующие транскрипцию определенных генов в присутствии определенного стероидного гормона. Когда же гормон отсутствует, рецепторные белки возвращаются в конформацию репрессора, предотвращая образование преинициаторных комплексов. В некоторых случаях в репрессии участвуют гистондеацетилазы и другие белки, которые помогают вернуть хроматин в транскрипционно неактивное состояние. Если медиатор содержит субъединицы с ингибиторной функцией, он тоже способен блокировать инициацию транскрипции. Возможно, этот механизм обеспечивает упорядоченную сборку преинициаторного комплекса (благодаря отсрочке активации транскрипции до тех пор, пока не соберутся все необходимые факторы) или помогает инактивировать промоторы, когда транскрипция не требуется.

Гены метаболизма галактозы в дрожжах подвергаются и положительной, и отрицательной регуляции

Некоторые из описанных выше общих принципов можно проиллюстрировать на примере одной хорошо изученной схемы регуляции в клетках эукариот (рис. 28-31). Ферменты дрожжей, необходимые для доставки и метаболизма галактозы, кодируются генами, разбросанными по нескольким хромосомам (табл. 28-3). Каждый из генов *GAL*

Рис. 28-31. Регуляция транскрипции генов метаболизма галактозы в дрожжах. Галактоза доставляется в клетку и превращается в галактозо-6-фосфат при участии шести ферментов, гены которых расположены на трех хромосомах (см. табл. 28-3). Транскрипция этих генов регулируется совместным действием белков Gal4p, Gal80p и Gal3p, причем Gal4p играет центральную роль активатора транскрипции. Комплекс Gal4p–Gal80p неактивен. Связывание галактозы с Gal3p и взаимодействие Gal3p с Gal80p вызывает изменение конформации Gal80p. Затем комплекс Gal3p–Gal80p выходит из ядра, что позволяет Gal4p связать медиатор и SAGA и участвовать в активации транскрипции.



транскрибируется отдельно, поскольку в клетках дрожжей, в отличие от бактерий, нет оперонов. Однако промоторы всех генов *GAL* похожи и координированно регулируются общим набором белков. Промоторы генов *GAL* состоят из TATA-бокса и последовательности Inr, а также активирующей последовательности UAS_G, распознаваемой активатором транскрипции Gal4p. Регуляция экспрессии генов галактозой происходит через взаимодействие между Gal4p и двумя другими белками Gal80p и Gal3p (рис. 28-31). Белок Gal80p образует комплекс с Gal4p, что не позволяет Gal4p действовать в качестве активатора промоторов *GAL*. Если имеется галактоза, она связывается с белком Gal3p, который затем взаимодействует с Gal80p, а Gal4p может действовать в качестве активатора на различных промоторах *GAL*.

В активации транскрипции генов *GAL* участвуют и другие белковые комплексы. Это комплекс SAGA для ацетилирования гистонов, комплекс SWI/SNF для ремоделирования нуклеосом и медиаторный комплекс. Когда Gal4p не связан с

Таблица 28-3 Гены метаболизма галактозы в дрожжах

Ген	Функция белка	Хромосома	Размер белка (число остатков)	Относительный уровень экспрессии на разных источниках углерода		
				Глюкоза	Глицерин	Галактоза
Регулируемые гены						
GAL1	Галактокиназа	II	528	–	–	+++
GAL2	Галактозопермеаза	XII	574	–	–	+++
PGM2	Фосфоглюкомутаза	XIII	569	+	+	++
GAL7	Галактозо-1-фосфат-уридилтрансфераза	II	365	–	–	+++
GAL10	UDP-глюкозо-4-эпимераза	II	699	–	–	+++
MEL1	α-Галактозидаза	II	453	–	+	++
Регуляторные гены						
GAL3	Индуктор	IV	520	–	+	++
GAL4	Активатор транскрипции	XVI	881	+/-	+	+
GAL80	Ингибитор транскрипции	XIII	435	+	+	++

Источник. По Reece R. & Platt A. (1977) Signaling activation and repression of RNA polymerase II transcription in yeast. *Bioessays* 19, 1001–1010 (с сокр.).

Gal880p, он привлекает эти дополнительные факторы, необходимые для инициации транскрипции. Оценить сложность белковых взаимодействий в процессе активации транскрипции в клетках эукариот можно, если обратиться к **рис. 28-32**.

Дрожжи, как и бактерии, предпочитают использовать в качестве источника углерода глюкозу. В присутствии глюкозы происходит репрессия большинства генов *GAL*, независимо от наличия галактозы. Описанная выше система регуляции *GAL* эффективно подавляется сложной системой катаболитной репрессии, в которой участвует несколько белков (не показаны на рис. 28-32).

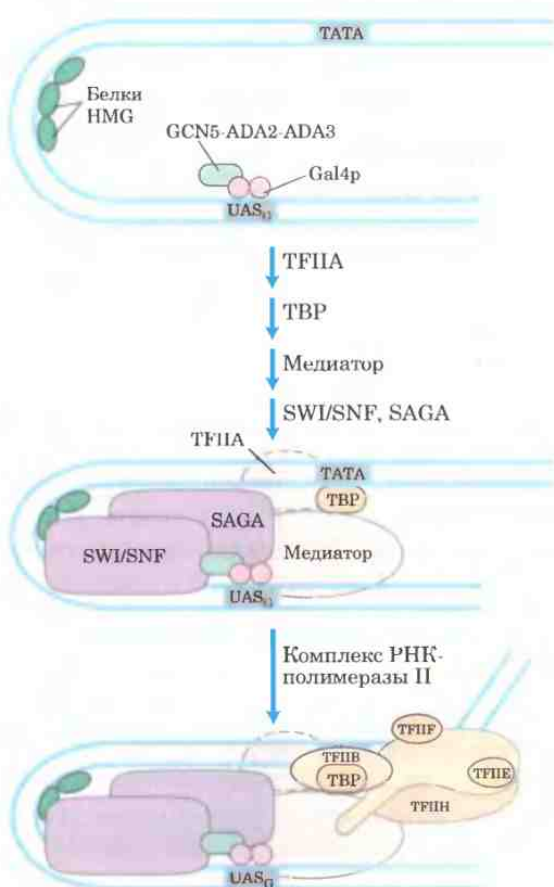


Рис. 28-32. Белковые комплексы, участвующие в активации транскрипции группы родственных эукариотических генов. Система *GAL* иллюстрирует сложность этого процесса, причем нам известны еще не все белковые комплексы, которые влияют на транскрипцию генов *GAL*. Обратите внимание, что многие комплексы (SWI/SNF, GCN5-ADA2-ADA3 и медиатор) влияют на транскрипцию множества генов. Сборка комплексов происходит последовательно, в несколько стадий, как показано на рис. 28-30.

Активаторы транскрипции имеют модульное строение

Типичные активаторы транскрипции содержат хорошо выраженный структурный домен для специфического связывания ДНК и один или несколько дополнительных доменов для активации транскрипции или для взаимодействия с другими регуляторными белками. Взаимодействие двух регуляторных белков часто опосредовано доменами, содержащими лейциновые молнии (рис. 28-14) или мотивы спираль–петля–спираль (рис. 28-15). Мы рассмотрим три примера активаторов транскрипции, содержащих разные активирующие домены (**рис. 28-33, а**): Gal4p, Sp1 и CTF1.

В ДНК-связывающем домене белка Gal4p вблизи N-конца содержится структура типа цинкового пальца; здесь находятся шесть остатков Cys, координирующие два иона Zn^{2+} . Белок функционирует в виде гомодимера (димеризация обусловлена взаимодействием двух суперспиралей) и связывается с UAS_G — палиндромной последовательностью ДНК длиной около 17 п. н. Белок Gal4p имеет отдельный активирующий домен, содержащий множество остатков кислых аминокислот. Вариации последовательности в этом **кислом активирующем домене** Gal4p в экспериментальных условиях позволяют предположить, что кислая природа домена принципиально важна для его работы, но сама последовательность может значительно изменяться.

Белок Sp1 ($M_r = 80\,000$) активирует транскрипцию большого числа генов высших эукариот. Его ДНК-связывающий GC-бокс (консенсусная последовательность GGGCGG) обычно располагается в непосредственной близости от TATA-бокса. ДНК-связывающий домен белка Sp1 находится рядом с С-концом и содержит три цинковых пальца. Два других домена Sp1 участвуют в активации и замечательны тем, что на 25% состоят из глутамина. Такой **богатый глутамином домен** есть и во многих других белках-активаторах.

ССААТ-связывающий фактор транскрипции 1 (CTF1) относится к семейству активаторов транскрипции, которые связываются с последовательностью, называемой ССААТ-участком (консенсусная последовательность TGGN₆GCCAA, где N — любой нуклеотид). ДНК-связывающий домен CTF1 содержит множество остатков ос-

новых аминокислот, а связывающий участок, по-видимому, представляет собой α -спираль. Этот белок не содержит мотивов спираль–петля–спираль или цинковых пальцев, и механизм его связывания с ДНК пока не ясен. Фактор STF1 содержит **богатый пролином активирующий домен**, в котором доля пролиновых остатков превышает 20% общего числа аминокислот.

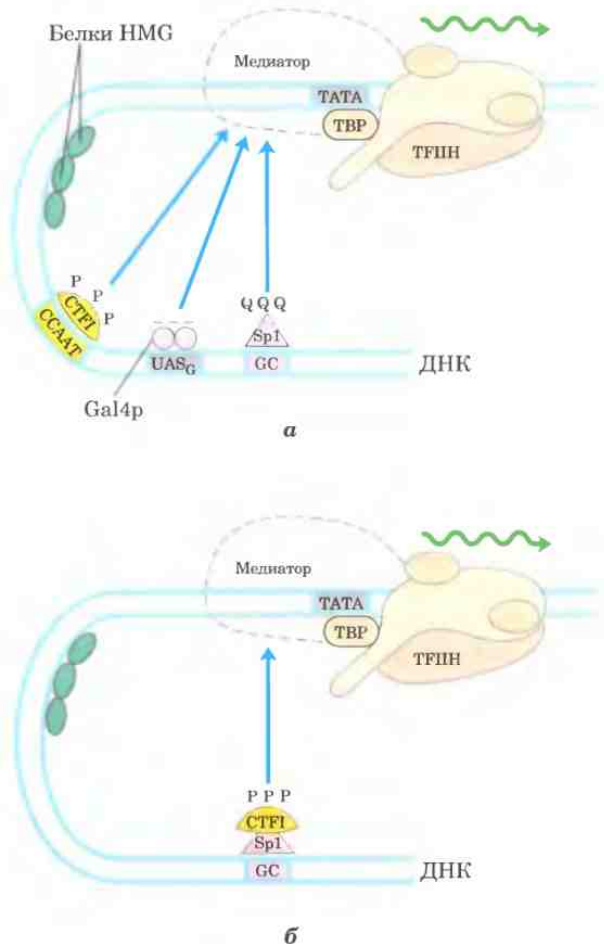


Рис. 28-33. Активаторы транскрипции. а — типичные активаторы, такие как CTF1, Gal4p и Sp1, содержат ДНК-связывающий и активирующий домены. Природа активирующего домена показана символами: «— — —» — кислый; «QQQ» — богатый глутамином; «PPP» — богатый пролином. Эти белки обычно активируют транскрипцию при помощи ко-активаторных комплексов, таких как медиатор. Обратите внимание, что изображенные здесь участки связывания не всегда расположены вместе у одного гена. б — химерный белок, содержащий ДНК-связывающий домен Sp1 и активирующий домен CTF1; белок активирует транскрипцию при наличии GC-бокса в ДНК.

Домены активации и связывания ДНК в регуляторных белках часто действуют независимо, что было продемонстрировано в экспериментах по замене доменов. С помощью генно-инженерных методов (гл. 9 в т. 1) богатый пролином домен STF1 был соединен с ДНК-связывающим доменом Sp1, в результате чего получился белок, который подобно нормальному Sp1 связывался с GC-боксом в ДНК и активировал транскрипцию с соседнего промотора (как на рис. 28-33, б). Аналогичным образом ДНК-связывающий домен Gal4p был заменен ДНК-связывающим доменом репрессора LexA из *E. coli* (системы SOS-ответа; рис. 28-22). Этот химерный белок не связывался с последовательностью UAS_G и не активировал гены GAL дрожжей (как сделал бы нормальный белок Gal4p), если только последовательность UAS_G в ДНК не заменяли участком узнавания LexA.

Экспрессия эукариотических генов может регулироваться внеклеточными и внутриклеточными сигналами

Действие стероидных гормонов (а также тиреоидных и ретиноидных гормонов, действующих сходным образом) — это еще один хорошо изученный пример модуляции действия эукариотических регуляторных белков путем прямого взаимодействия с сигнальными молекулами (см. рис. 12-29 в т. 1). В отличие от гормонов других типов стероидные гормоны не связываются с рецепторами цитоплазматической мембраны. Они могут взаимодействовать с внутриклеточными рецепторами, которые сами являются активаторами транскрипции. Стероидные гормоны (например, эстроген, прогестерон и кортизол) слишком гидрофобные и плохо растворяются в крови, поэтому их доставку от места синтеза к тканям-мишеням осуществляют специфические белки-переносчики. В тканях гормоны проходят через цитоплазматическую мембрану путем простой диффузии и связываются со специфическими рецепторными белками в ядре. Комплекс гормона с рецептором с высокой специфичностью связывается с последовательностями ДНК, называемыми **гормон-чувствительными элементами (HRE** — от англ. *hormone response elements*), влияя на экспрессию генов. Связывание гормонов вызывает конформационные изменения рецепторных белков, так что они приобретают способность взаи-

Таблица 28-4

**Гормон-чувствительные элементы (HRE),
с которыми связываются рецепторы стероидных гормонов**

Рецептор гормона	Связываемая консенсусная последовательность ^a
Андроген	GG(A/T)ACAN ₂ TGTTCT
Глюкокортикоид	GGTACAN ₃ GTTCT
Ретиновая кислота	AGGTCAN ₅ AGGTCA
Витамин D	AGGTCAN ₃ AGGTCA
Тиреоидный гормон	AGGTCAN ₃ AGGTCA
RX ^b	AGGTCANAGGTCANAGGTCANAGGTCA

^a N — любой нуклеотид.

^b Образует димер с рецептором ретиновой кислоты или рецептором витамина D.

модействовать с дополнительными факторами транскрипции. Связанный гормон-рецепторный комплекс может либо усиливать, либо подавлять экспрессию соседних генов.

Последовательности HRE, с которыми связываются комплексы разных стероидных гормонов с рецепторами, похожи по длине и структуре, но имеют разный нуклеотидный состав. Каждому рецептору соответствует консенсусная последовательность

последовательности HRE (табл. 28-4), с которой гормон-рецепторный комплекс связывается более эффективно. Каждая такая последовательность состоит из двух шестинуклеотидных фрагментов, которые либо соприкасаются, либо разделены тремя нуклеотидами и расположены в виде тангема или палиндрома. Рецепторы содержат высококонсервативный ДНК-связывающий домен с двумя цинковыми пальцами (рис. 28-34). Гор-

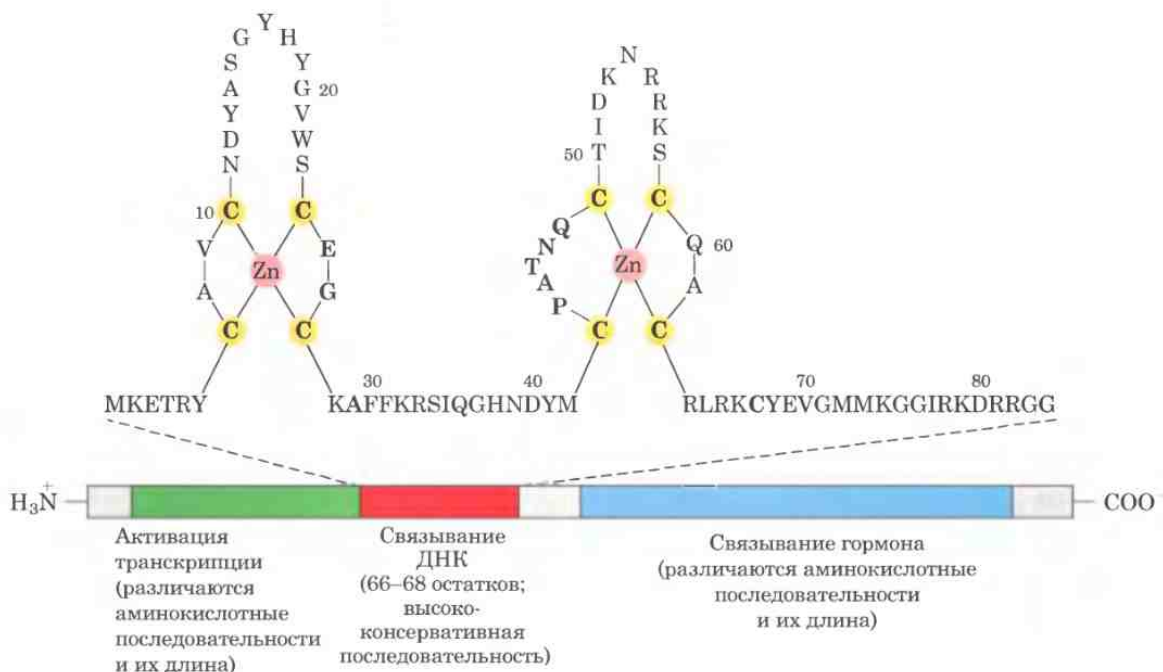


Рис. 28-34. Типичные рецепторы стероидных гормонов. Эти рецепторные белки содержат участок связывания с гормоном, ДНК-связывающий домен и участок, активирующий транскрипцию регулируемого гена. Высококонсервативный ДНК-связывающий домен содержит два цинковых пальца. Здесь показана последовательность рецептора эстрогена, но остатки, выделенные жирным шрифтом, являются общими для всех рецепторов стероидных гормонов.

мон-рецепторный комплекс связывается с ДНК в виде димера, при этом домены с цинковыми пальцами каждого мономера узнают по одному шестинуклеотидному фрагменту. Способность конкретного гормона изменять экспрессию специфического гена, действуя через гормон-рецепторный комплекс, зависит от нуклеотидной последовательности HRE, ее расположения относительно гена и количества последовательностей HRE, связанных с этим геном.

В отличие от ДНК-связывающего домена лиганд-связывающий участок рецепторного белка (всегда расположенный на С-конце белка) весьма специфичен к конкретному рецептору. Лиганд-связывающий участок глюкокортикоидного рецептора имеет лишь 30% сходства с рецептором эстрогена и 17% — с рецептором тиреоидного гормона. Размеры лиганд-связывающих участков рецепторов сильно варьируют: в рецепторе витамина D это всего 25 аминокислотных остатков, тогда как в рецепторе минералокортикоидов — 630 остатков. Мутации, в результате которых происходит замена только одного аминокислотного остатка в этом участке, могут привести к исчезновению реакции на специфический гормон. Мутации такого типа встречаются у людей, нечувствительных к кортизолу, тестостерону, витамину D или тироксину.

Некоторые рецепторы гормонов, включая человеческий рецептор прогестерона, активируют транскрипцию при помощи необычного коактиватора — **РНК-активатора стероидного рецептора** (*steroid receptor RNA activator, SRA*). Эта последовательность РНК длиной ~700 нуклеотидов действует как часть рибонуклеопротеинового комплекса, но для ко-активации транскрипции нужен именно его РНК-компонент. Подробности взаимодействия SRA с другими компонентами систем регуляции данных генов еще предстоит выяснить.

Регуляция может осуществляться путем фосфорилирования ядерных факторов транскрипции

В гл. 12 (т. 1) мы рассказывали о том, что влияние инсулина на экспрессию генов происходит через каскад реакций, в конечном итоге приводящих к активации протеинкиназы в ядре, которая фосфорилирует специфические ДНК-связывающие

белки и тем самым изменяет их способность действовать в качестве факторов транскрипции (см. рис. 12-6). По такому механизму действуют многие нестероидные гормоны. Например, β -адренергический путь, ведущий к повышению уровня цитоплазматического cAMP, выполняющего функцию вторичного мессенджера и у эукариот, и у бактерий (см. рис. 12-4, в т. 1 и рис. 28-18), также влияет на транскрипцию некоторых генов, расположенных рядом со специфической последовательностью ДНК, называемой **cAMP-чувствительным элементом (CRE** — от англ. *cAMP response element*). Каталитическая субъединица протеинкиназы A, которая высвобождается при повышении концентрации cAMP (см. рис. 12-6), проникает в ядро и фосфорилирует ядерный белок **CREB (CRE-связывающий белок)**. Фосфорилированный CREB связывается с элементами CRE рядом с определенными генами и действует как фактор транскрипции, запуская экспрессию этих генов.

Трансляция многих эукариотических мРНК подавляется

В клетках эукариот регуляция экспрессии на уровне трансляции играет гораздо более важную роль, чем в клетках бактерий, и происходит в целом ряде ситуаций. В отличие от бактерий, в которых транскрипция и трансляция непосредственно связаны, транскрипты, образующиеся в эукариотических ядрах, до начала трансляции должны пройти процессинг и попасть в цитоплазму. Все это может значительно затормозить синтез белка. Когда клетке требуется быстро увеличить продукцию белка, находящаяся в цитоплазме мРНК, трансляция которой подавлена, может быть быстро активирована для трансляции. Регуляция на уровне трансляции особенно важна для экспрессии некоторых очень протяженных эукариотических генов (некоторые гены состоят из миллионов пар оснований), транскрипция и процессинг мРНК которых могут длиться много часов. Некоторые гены регулируются как на стадии транскрипции, так и на стадии трансляции, причем последний механизм служит для тонкой настройки концентрации клеточных белков. В некоторых безъядерных клетках, таких как ретикулоциты (незрелые эритроциты), контроль на уровне транскрипции

невозможен, поэтому решающую роль играет контроль трансляции уже синтезированной мРНК. Как будет рассказано далее, контроль трансляции играет важную роль в процессе развития многоклеточного организма, когда путем регуляции трансляции ранее синтезированной мРНК создается локальный градиент белка.

У эукариот реализуется, как минимум, четыре основных механизма регуляции трансляции.

1. Факторы инициации трансляции подвергаются фосфорилированию протеинкиназами. Фосфорилированные формы обычно менее активны и вызывают общее замедление трансляционных процессов в клетке.
2. Некоторые белки связываются непосредственно с мРНК, многие — со специфическими участками в 3'-нетранслируемой области (3'UTR) и действуют как репрессоры трансляции. Связанные в этом участке белки взаимодействуют с другими факторами инициации трансляции, связанными с мРНК или с 40S-субъединицей рибосомы, и предотвращают инициацию трансляции (рис. 28-35, ср. с рис. 27-27).

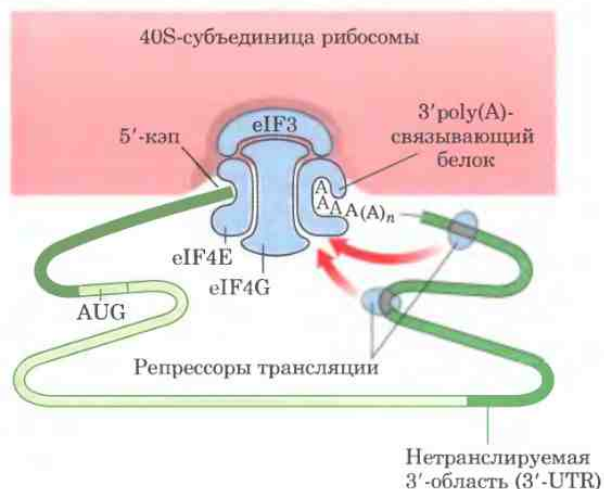


Рис. 28-35. Регуляция трансляции эукариотической мРНК. Один из самых важных механизмов регуляции трансляции в клетках эукариот заключается в связывании репрессоров трансляции (РНК-связывающих белков) со специфическими участками в 3'-нетранслируемой области (3'-UTR) мРНК. Эти белки взаимодействуют с эукариотическими факторами инициации или с рибосомами (см. рис. 27-27), что предотвращает или замедляет трансляцию.

3. Некоторые белки, имеющиеся у всех эукариот — от дрожжей до млекопитающих, нарушают взаимодействия между eIF4E и eIF4G (см. рис. 27-27). Соответствующие белки млекопитающих называют 4E-ВР (белки, связывающие eIF4E). Когда клетка растет медленно, эти белки ограничивают трансляцию, связываясь с участком на eIF-4E, который в норме взаимодействует с eIF4G. Когда клеточный рост возобновляется или ускоряется в ответ на сигнал факторов роста или на другие стимулы, связывающие белки инактивируются фосфорилированием под действием протеинкиназ.
4. Регуляция экспрессии генов, опосредованная РНК, которую мы обсудим чуть позже, обычно заключается в подавлении трансляции.

Разнообразие механизмов регуляции трансляции обеспечивает гибкость при осуществлении подавления трансляции — замедление трансляции может касаться лишь нескольких мРНК или же охватить глобальную регуляцию всего процесса трансляции в клетке.

Хорошо изучен процесс регуляции трансляции в ретикулоцитах. В этих клетках в регуляции трансляции участвует фактор инициации eIF2, который связывается с инициаторной тРНК и подводит ее к рибосоме. Когда Met-тРНК связывается в Р-сайте, с eIF2 связывается фактор eIF2B и высвобождает его за счет связывания и гидролиза GTP. В ходе созревания ретикулоцитов ядро клеток разрушается, и все пространство внутри плазматической мембраны оказывается заполненным гемоглобином. Матричная РНК, накопленная в цитоплазме до исчезновения ядра, позволяет поддерживать запасы гемоглобина. Когда ретикулоциты испытывают дефицит железа или гема, происходит остановка трансляции мРНК глобинов. Активируется протеинкиназа **HCR** (от англ. *hemin-controlled repressor* — репрессор, контролируемый гемом), которая фосфорилирует eIF2. Фосфорилированный eIF2 образует стабильный комплекс с eIF2B, что делает невозможным участие eIF2 в трансляции. Так ретикулоциты координируют синтез глобина с наличием гема.

При изучении развития многоклеточных организмов было выявлено множество других примеров регуляции трансляции, что подробнее обсуждается ниже.

Посттранскрипционный сайленсинг гена опосредован РНК

В клетках высших эукариот, в том числе нематод, плодовых мушек, растений и млекопитающих, выключение (сайленсинг) многих генов опосредуют малые молекулы РНК, названные **микро-РНК**. Эти РНК функционируют путем взаимодействия с молекулами мРНК (часто в области 3'UTR), приводя либо к деградации мРНК, либо к подавлению трансляции. В любом случае мРНК, а значит и ген, с которого она образована, отключается («молчит»). Этот механизм регуляции генов контролирует порядок событий в ходе развития некоторых организмов. Такая регуляция также используется для защиты от заражения РНК-вирусами (что особенно важно для растений, у которых нет иммунной системы) и для контроля активности транспозонов. Кроме того, малые молекулы РНК могут играть важную (но пока еще неопределенную) роль в образовании гетерохроматина.

Многие микро-РНК существуют только на определенных этапах развития, и иногда их относят к **малым временным РНК (мвРНК)**. В высших эукариотах идентифицированы тысячи различных микро-РНК, которые могут влиять на регуляцию трети всех генов млекопитающих. Они транскрибируются в виде РНК-предшественников длиной около 70 нуклеотидов с внутренними комплементарными последовательностями, которые образуют структуры типа шпильки (см. рис. 26-28). Эти предшественники расщепляются эндонуклеазами, такими как Droscha и Dicer, с образованием коротких дуплексов длиной 20–25 нуклеотидов. Одна цепь процессированной микро-РНК связывается с мРНК-мишенью (или с РНК вируса или транспозона), что приводит к подавлению трансляции или к деградации РНК (рис. 28-36). Некоторые микро-РНК связываются с мРНК одного вида, управляя экспрессией единственного гена. Другие взаимодействуют со многими мРНК, являясь ключевым элементом регулона и координируя экспрессию множества генов.

Этот механизм регуляции генов имеет интересную и очень полезную практическую сторону. Если ввести в организм РНК-дуплекс, последовательность которого соответствует фактически любой мРНК, эндонуклеаза Dicer расщепляет эти дуплексы на короткие фрагменты, называемые **малыми интерферирующими РНК**

(**миРНК**). Они связываются с мРНК и вызывают их сайленсинг (рис. 28-36, б). Этот процесс называют **интерференцией РНК**. В растениях фактически любой ген может быть эффективно выключен таким способом. Нематоды способны поглощать функциональные РНК целиком, и поэтому простое добавление дуплексной РНК в их корм позволяет очень эффективно отключать гены-мишени. Такой метод быстро стал важным инструментом в изучении функций генов, так как он позволяет отключить ген без создания мутантного организма. Этот подход может оказаться полезным и при лечении человека. Искусственно синтезированные миРНК позволяют блокировать распространение ВИЧ и полиовирусной инфекции в культурах клеток человека примерно в течение недели. Быстрый прогресс в этой области позволяет надеяться на внедрение методов интерференции РНК в медицину в будущем.

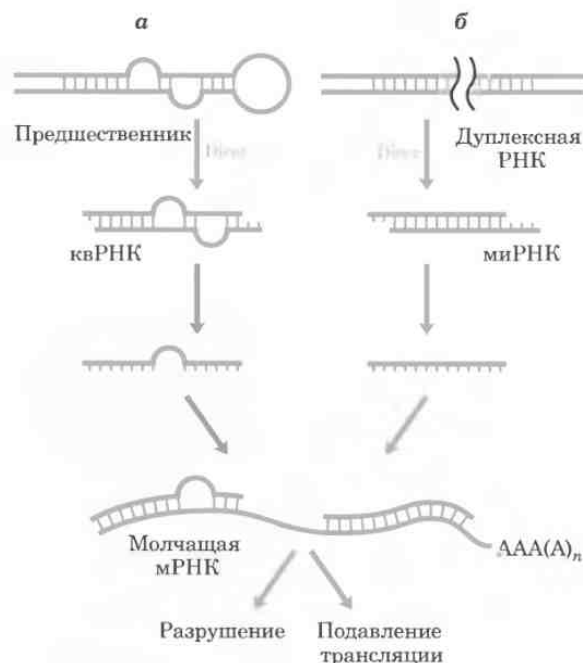


Рис. 28-36. Сайленсинг генов в результате интерференции РНК. **а** — малые временные РНК (мвРНК) образуются под действием эндонуклеазы Dicer из более длинных предшественников, которые содержат дуплексные участки. Затем эти мвРНК связываются с мРНК, приводя к разрушению мРНК или подавлению трансляции. **б** — двухцепочечные РНК можно искусственно сконструировать и ввести в клетку. Dicer превращает дуплексные РНК в малые интерферирующие РНК (миРНК), которые взаимодействуют с мРНК-мишенью. В этом случае происходит либо расщепление мРНК, либо ингибирование ее трансляции.

У эукариот реализуется несколько вариантов РНК-опосредованной регуляции экспрессии генов

У эукариот к РНК со специфическими функциями относят описанные выше микроРНК, мяРНК, участвующие в сплайсинге РНК (см. рис. 26-16), а также мяРНК, участвующие в модификации рРНК (см. рис. 26-26). Все не кодирующие белок РНК, включая рРНК и тРНК, имеют общее название — **некодирующие РНК (нкРНК)**. Вероятно, в геномах млекопитающих содержится больше некодирующих, чем кодирующих РНК (см. доп. 26-4). Неудивительно, что до сих пор появляются новые функциональные классы некодирующих РНК.

Многие из недавно обнаруженных некодирующих РНК взаимодействуют не с РНК, а с белками, и изменяют свойства связанных белков. Один из примеров — белок SRA, который выступает в роли ко-активатора генов, реагирующих на действие стероидных гормонов; он влияет на активацию транскрипции. Еще один пример — белки теплового шока. Фактор теплового шока-1 (HSF-1) — это белок-активатор, который в обычных условиях существует в виде мономера, связанного с шапероном Hsp90. При стрессе HSF-1 высвобождается из комплекса с Hsp90 и тримеризуется. Тример HSF-1 связывается с ДНК и активирует транскрипцию генов, продукты которых необходимы для реакции на стресс. Некодирующая РНК фактора HSR1 (от англ. *heat shock RNA 1*; ~ 600 нуклеотидов) стимулирует образование тримеров HSF-1 и связывание ДНК. Фактор HSR1 действует не в одиночку, а в комплексе с фактором элонгации трансляции eEF1A.

Вспомогательные РНК влияют на ход транскрипции многими способами. Наряду с участием в сплайсинге (см. рис. 26-17) мяРНК U1 прямо связывается с фактором транскрипции TFIIN. Функция мяРНК U1 в этом комплексе не совсем понятна; возможно, она регулирует активность TFIIN и/или влияет на сопряжение процессов транскрипции и сплайсинга. Еще одна РНК с неопределенной функцией, названная 7SK, состоит из 331 нуклеотида; она содержится в большом количестве в клетках млекопитающих, связывается с фактором элонгации транскрипции р-TEFb (см. табл. 26-2) и подавляет удлинение транскрипта. Другая нкРНК, B2 (~178 нуклеотидов) напря-

мую связывается с Pol II при тепловом шоке и подавляет транскрипцию. Связанная с B2 полимераза II образует стабильный преинициаторный комплекс, но транскрипция при этом блокирована. Таким способом при тепловом шоке РНК B2 подавляет транскрипцию многих генов, однако существует неизвестный пока механизм, позволяющий чувствительным к HSF-1 генам экспрессироваться в присутствии B2.

Представления о роли нкРНК в экспрессии генов и во многих других клеточных процессах быстро развиваются. Одновременно с этим интересы биохимиков, изучающих регуляцию генов, все больше смещаются от белков в сторону РНК.

Развитие контролируется каскадами регуляторных белков

По сложности схем регуляции генов процесс превращения зиготы в многоклеточное животное или растение не имеет себе равных. В ходе развития происходят изменения морфологии и белкового состава, которые зависят от точной координации изменений в экспрессии генома. В ранний период развития экспрессируется больше генов, чем в любой другой период жизненного цикла. Например, ооцит морского ежа содержит около 18 500 различных мРНК, а типичная дифференцированная ткань — около 6000. Матричные РНК ооцита дают начало каскаду событий, которые регулируют экспрессию многих генов во времени и в пространстве.

Некоторых животных особенно удобно использовать в качестве модельных систем для изучения развития, поскольку их легко содержать в лабораторных условиях, и они достаточно быстро размножаются. К таким животным относятся нематоды, плодовые мушки, рыбки-данио, мыши и растения *Arabidopsis*. В этом разделе мы сосредоточим внимание на развитии плодовых мушек. Мы достаточно далеко продвинулись в понимании молекулярных событий, происходящих в ходе развития *Drosophila melanogaster*, и имеющуюся информацию можно использовать для иллюстрации общих схем и принципов.

Развитие дрозофилы идет с полным метаморфозом на пути от эмбриона к взрослой особи (рис. 28-37). Самые важные характеристики эмбриона — это **полярность** (передний и задний

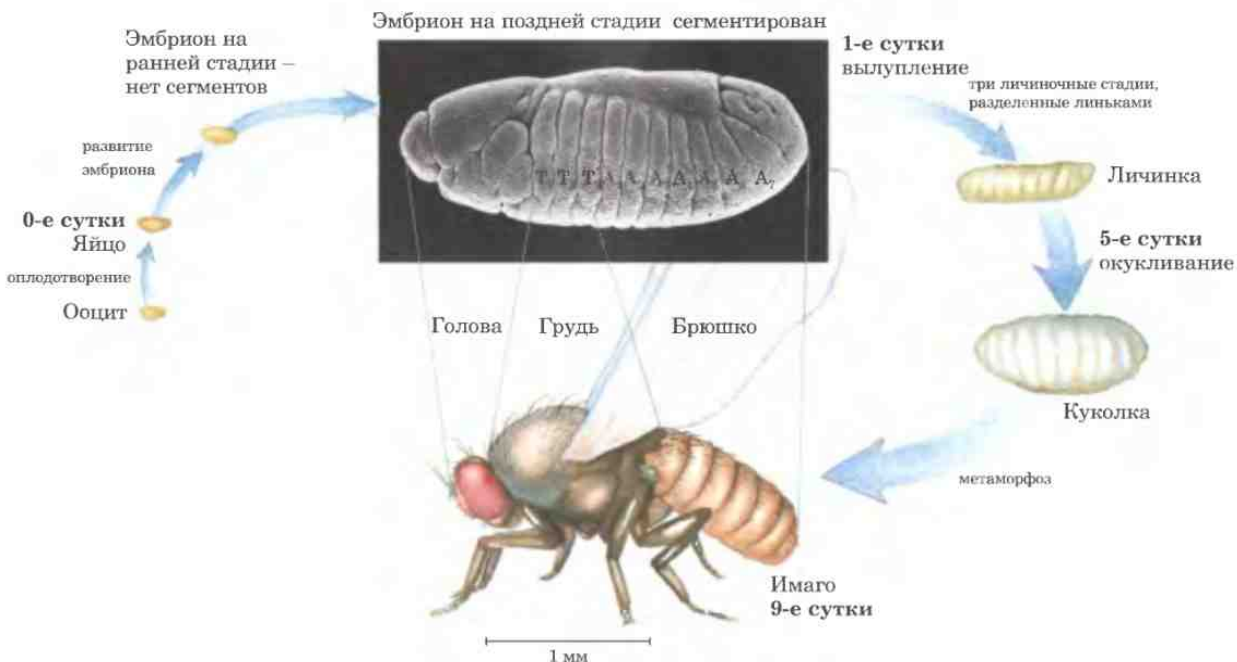


Рис. 28-37. Жизненный цикл плодовой мушки *Drosophila melanogaster*. Развитие дрозофилы протекает с полным метаморфозом, т. е. взрослое насекомое кардинальным образом отличается от промежуточных форм; такая трансформация требует множества изменений в ходе развития. К поздней эмбриональной стадии уже сформированы сегменты, содержащие специализированные структуры, из которых впоследствии развиваются различные придатки и другие структуры взрослой мухи.

конец животного легко различимы, также как спинная и брюшная стороны) и **метамерия** (тело эмбриона составлено из наборов повторяющихся сегментов с характерными признаками). В процессе развития эти сегменты превращаются в голову, грудь и брюшко. Каждый грудной сегмент взрослого насекомого содержит разный набор придатков. Реализация этого сложного плана развития находится под генетическим контролем. Уже известно множество генов, регулирующих этот процесс и удивительным образом влияющих на формирование тела животного.

Яйцеклетка дрозофилы и 15 клеток-нянек окружены слоем фолликулярных клеток (рис. 28-38). По мере развития яйцеклетки (до оплодотворения) мРНК и белки, происходящие из клеток-нянек и фолликулярных клеток, откладываются в яйцеклетке, и некоторые из них играют определяющую роль в развитии. В определенное время самка откладывает оплодотворенное яйцо, которое делится, и дочерние клетки продолжают синхронно делиться каж-

дые 6–10 минут. Вокруг образующихся ядер нет плазматической мембраны, они распределяются внутри цитоплазмы яйца, формируя синцитий. Между восьмым и одиннадцатым делением ядра мигрируют к периферии яйца, образуя монослой, окружающий общую насыщенную желтком цитоплазму; это синцитиальная бластодерма. После еще нескольких дополнительных делений мембрана образует выпячивания, которые окружают ядра, в результате чего возникает слой клеток, формирующих клеточную бластодерму. На этой стадии митотические циклы в различных клетках перестают синхронизироваться. Дальнейшее развитие каждой клетки определяется мРНК и белками, запасенными клетками-няньками и фолликулярными клетками на самой ранней стадии.

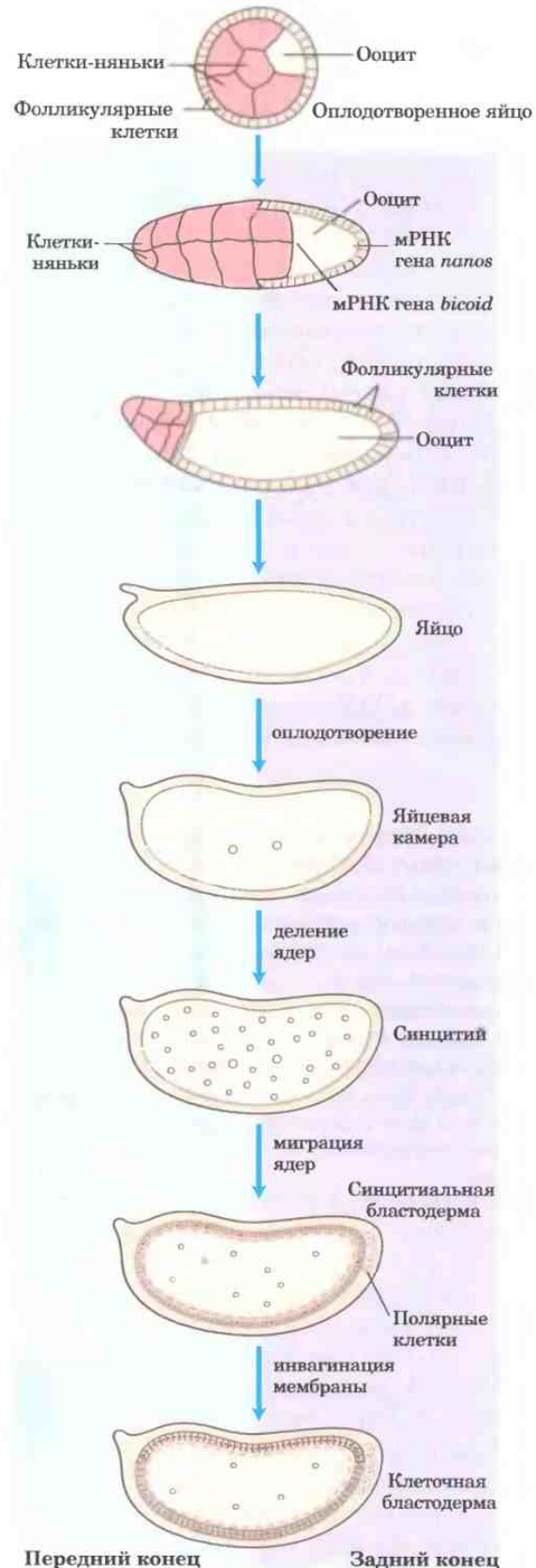
Белки, которые путем изменения локальной концентрации или активности заставляют окружающую ткань принимать определенную форму или структуру, иногда называют **морфогенами**; они являются продуктами генов, регулирующих стро-



Кристиана Нюсляйн-Фольхард

ение тела. Как установили Кристиана Нюсляйн-Фольхард, Эдвард Б. Льюис и Эрик Ф. Вишаус, три главных класса генов, регулирующих строение тела, — материнские гены, гены сегментации и гомеотические гены — действуют на последовательных стадиях развития, точно определяя основные структуры тела эмбриона дрозофилы. **Материнские гены** экспрессируются в неоплодотворенном яйце, и образующиеся **материнские мРНК** остаются спящими до оплодотворения. Они кодируют большинство белков, необходимых на самых ранних стадиях развития — до образования клеточной бластодермы. Некоторые белки, кодируемые материнскими мРНК, управляют пространственной организацией развивающегося зародыша на ранних стадиях, устанавливая его полярность. **Гены сегментации**, транскрибируемые после оплодотворения, задают точное число сегментов тела. На последовательных стадиях действуют, как минимум, три подкласса генов сегментации: **гены пробыла (gap-гены)** делят развивающийся зародыш на несколько обширных областей; **гены парного**

Рис. 28-38. Ранние стадии развития дрозофилы. В процессе развития яйца материнские мРНК (включая транскрипты генов *bicoid* и *nanos*, которые обсуждаются в тексте) и белки синтезируются клетками-няньками и фолликулярными клетками и откладываются в развивающемся ооците (неоплодотворенной яйцеклетке). После оплодотворения два ядра оплодотворенного яйца синхронно делятся внутри общей цитоплазмы (синцитий), а затем мигрируют к периферии. Складки мембраны окружают ядра, формируя монослой клеток на периферии (стадия клеточной бластодермы). Во время первых делений ядер несколько ядер на заднем конце становятся полярными клетками, которые позднее станут клетками зародышевой линии.



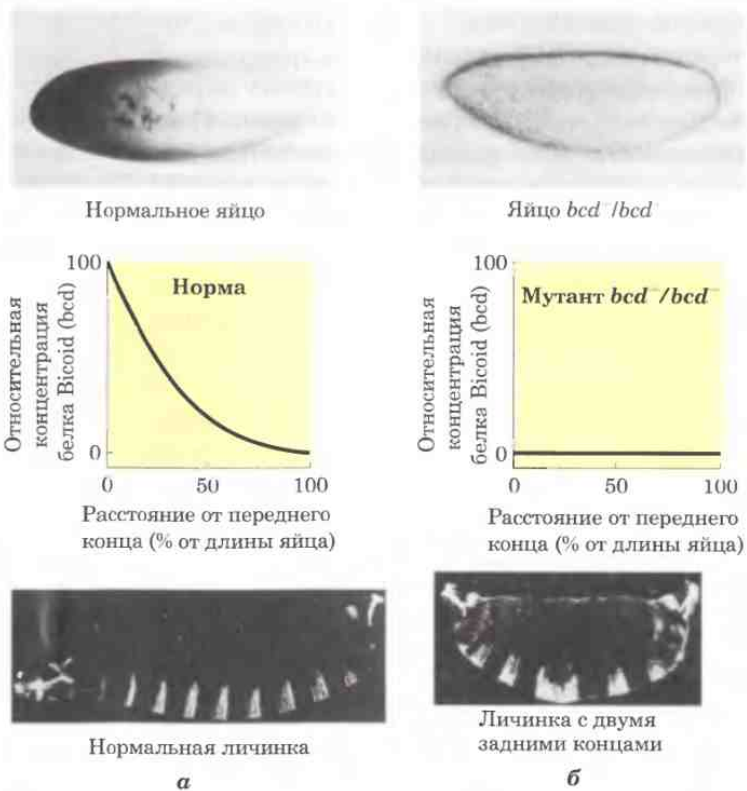
правила (pair-rule) вместе с **генами полярности сегментов** определяют 14 полюс, которые станут 14 сегментами тела нормального эмбриона. **Гомеотические гены** экспрессируются еще позже; они определяют, какие органы и придатки разовьются в каждом сегменте тела.

Множество регуляторных генов из этих трех классов отвечает за появление взрослой мушки с головой, грудью и брюшком, с надлежащим числом сегментов и с нужными придатками в каждом сегменте. Хотя полный эмбриогенез занимает около суток, все эти гены активируются в течение первых четырех часов развития. Некоторые мРНК и белки появляются лишь на несколько минут в определенных фазах этого периода развития. Некоторые гены кодируют транскрипционные факторы, которые влияют на экспрессию других генов, — возникает каскад генетических событий. Регуляция осуществляется и на уровне трансляции: многие регуляторные гены кодируют репрессоры трансляции, большинство из которых связываются с нетранслируемой областью на 3'-конце мРНК (рис. 28-35). Так как многие мРНК накапливаются в яйце задолго до того, как

потребуется их трансляция, репрессия трансляции оказывается очень важным механизмом регуляции развития.

Материнские гены. Некоторые материнские гены экспрессируются внутри клеток-нянек и фолликулярных клеток, другие — в самом яйце. В неоплодотворенном яйце дрозофилы продукты материнских генов формируют две оси тела — передне-заднюю и спинно-брюшную; тем самым определяется, какие области радиально симметричного яйца образуют голову и брюшко, а также в верх и низ тела взрослой мухи. Ключевым событием на самых ранних стадиях развития является установление градиентов мРНК и белков вдоль осей тела. Некоторые материнские мРНК кодируют белковые продукты, которые диффундируют через цитоплазму и распределяются в яйце несимметричным образом. В результате клетки клеточной бластомеры наследуют разные количества этих белков, что направляет клетки по разным путям развития. Среди продуктов материнских мРНК есть активаторы и репрессоры транскрипции, а также репрессоры транс-

Рис. 28-39. Распределение продукта материнского гена в яйце дрозофилы. *а* — микрофотография яйца, окрашенного с помощью антител, демонстрирует распределение продукта гена *bicoid* (*bcd*). Графики отражают интенсивность окраски. Такое распределение необходимо для нормального развития структур передней части животного. *б* — если у матери ген *bcd* не экспрессируется (мутант *bcd⁻/bcd⁻*), мРНК *bicoid* не накапливается в яйце, и в результате формируется нежизнеспособный эмбрион с двумя задними частями.



ляции; все они регулируют экспрессию других генов, регулирующих строение тела. Возникающие специфические схемы и последовательности экспрессии генов различаются в разных линиях клеток, что в конечном итоге определяет развитие каждой структуры взрослой особи.

Формирование передне-задней оси зародыша дрозофилы в значительной степени определяется продуктами генов *bicoid* и *nanos*. Продукт гена *bicoid* — главный морфоген переднего конца тела, а продукт гена *nanos* — главный морфоген заднего конца. Матричная РНК гена *bicoid* синтезируется клетками-няньками и откладывается в неоплодотворенном яйце вблизи переднего конца. Нюслийн-Фольхард обнаружила, что эта мРНК транслируется вскоре после оплодотворения, и белок Bicoid распределяется в клетке, создавая к седьмому клеточному делению градиент концентрации, расходящийся радиально от переднего полюса (рис. 28-39, а). Белок Bicoid — фактор транскрипции, активирующий экспрессию ряда генов сегментации; этот белок содержит гомеодомен (рис. 28-13). Кроме того, Bicoid является репрессором трансляции и инактивирует определенные мРНК. Количество белка Bicoid в различных частях зародыша влияет на последующую экспрессию других генов, причем транскрипция генов активируется или их трансляция подавляется, только если концентрация белка Bicoid превышает определенный порог. Форма градиента концентрации белка Bicoid оказывает очень сильное влияние на строение тела мухи. Отсутствие белка Bicoid приводит к развитию эмбриона с двумя брюшками, но без головы и грудного отдела (рис. 28-39, б). Однако не имеющий белка Bicoid эмбрион развивается нормально, если в соответствующий конец яйца ввести достаточное количество мРНК *bicoid*. Ген *nanos* играет аналогичную роль, но его мРНК сосредоточена в заднем конце яйца и максимум передне-заднего градиента белка достигается на заднем полюсе. Белок Nanos подавляет трансляцию.

Если взглянуть на действие материнских генов в целом, можно обнаружить общую схему развития. Кроме асимметрично расположенных мРНК *bicoid* и *nanos*, в цитоплазме равномерным образом распределены другие материнские мРНК. Три из этих мРНК кодируют белки Pumilio, Hunchback и Caudal, находящиеся под влиянием *nanos* и *bicoid* (рис. 28-40). Белки

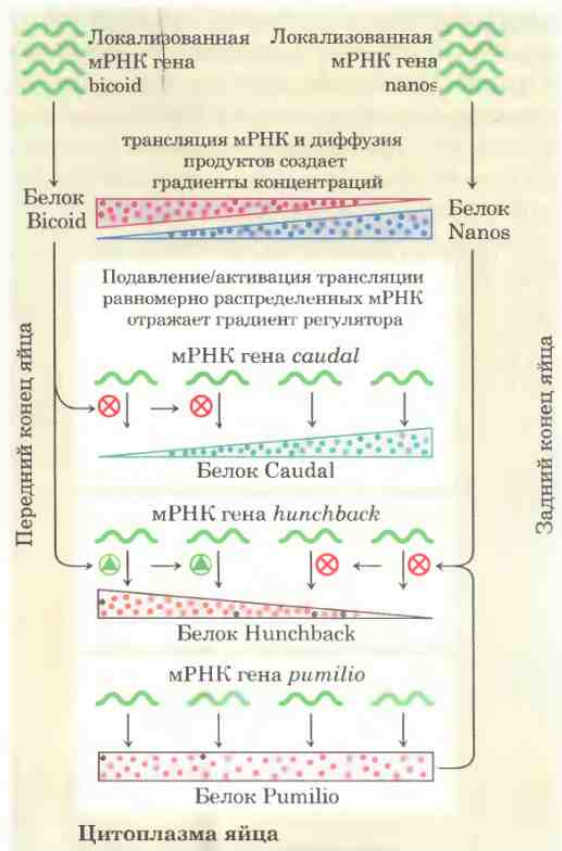


Рис. 28-40. Схема формирования передне-задней оси в яйце дрозофилы. Матричные РНК *bicoid* и *nanos* откладываются вблизи переднего и заднего концов яйца, соответственно; мРНК *caudal*, *hunchback* и *pumilio* равномерно распределены в цитоплазме. Градиенты белков Bicoid (Bcd) и Nanos приводят к накоплению белка Hunchback на переднем конце, а белка Caudal на заднем конце яйца. Белок Pumilio функционирует только на заднем конце яйца, поскольку для его активности в качестве репрессора трансляции гена *hunchback* требуется белок Nanos.

Caudal и Pumilio участвуют в развитии заднего конца мушки: Caudal — активатор транскрипции с гомеодоменом, Pumilio — репрессор трансляции. Белок Hunchback играет важную роль в развитии переднего конца и регулирует транскрипцию многих генов: в некоторых случаях — положительно, в других — отрицательно. Белок Bicoid подавляет трансляцию гена *caudal* на переднем конце и активирует транскрипцию гена *hunchback* в клеточной бластомере. Поскольку экспрессия *hunchback* происходит и с материнских мРНК, и с генов развивающегося яйца, его можно рас-

смаатривать и как материнский ген, и как ген сегментации. В результате активности Bicoid концентрация Hunchback на переднем конце яйца увеличивается. Белки Nanos и Pumilio являются репрессорами трансляции гена *hunchback*, подавляя синтез этого белка на заднем конце яйца. Белок Pumilio не функционирует в отсутствие белка Nanos, и градиент экспрессии *nanos* ограничивает активность обоих белков на заднем конце. Репрессия трансляции гена *hunchback* приводит к деградации мРНК *hunchback* в задней части. Однако отсутствие на заднем конце белка Bicoid приводит к экспрессии гена *caudal*. В результате белки Hunchback и Caudal распределены в яйце асимметричным образом.

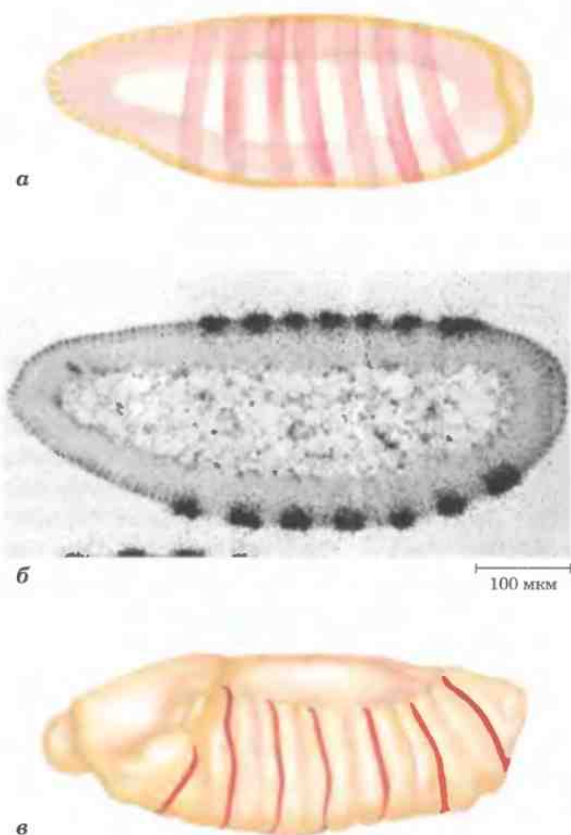
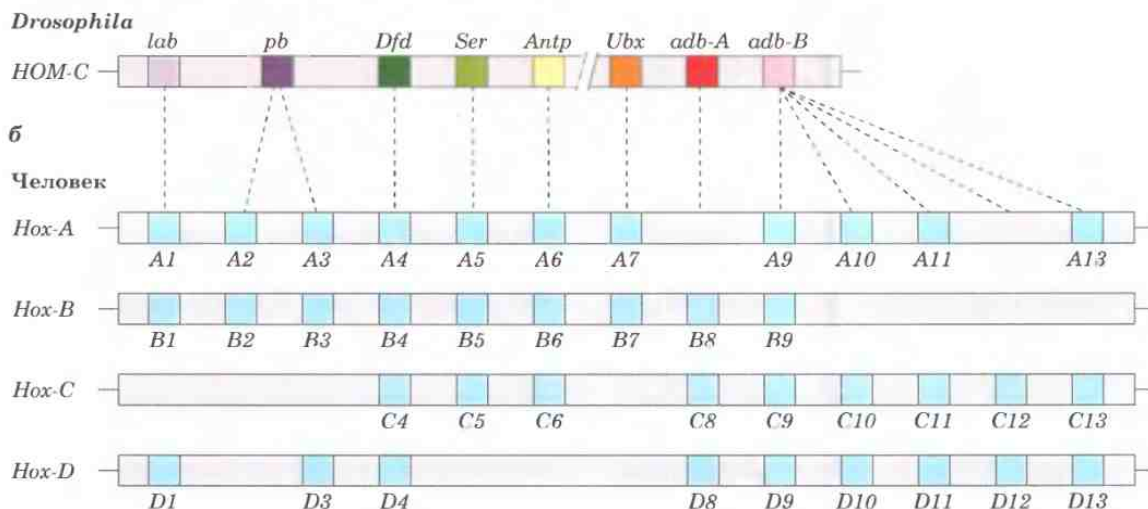
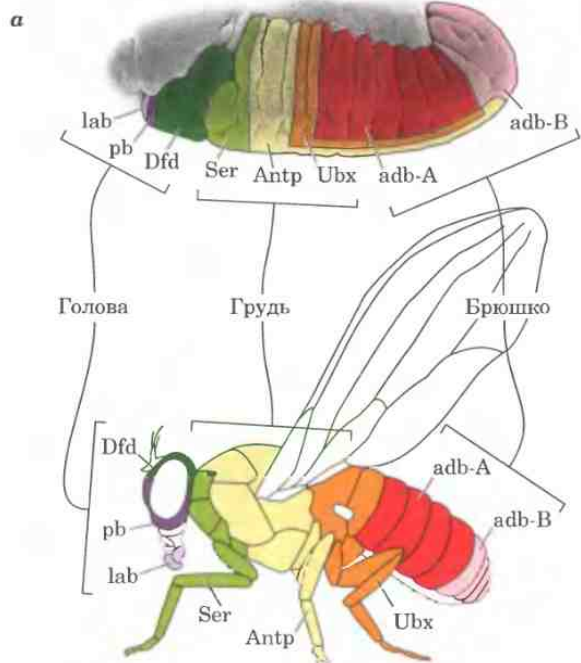


Рис. 28-41. Распределение продукта гена *fushi tarazu* (*ftz*) в раннем эмбрионе дрозофилы. *а* — в нормальном эмбрионе продукт гена можно обнаружить в семи полосах, охватывающих тело эмбриона (показаны схематично); *б* — на авторадииограмме продольного среза эмбриона эти полосы выглядят как темные пятна (радиоактивная метка); *в* — полосы определяют переднюю границу сегментов в позднем эмбрионе (обозначены красным цветом).

Гены сегментации. На последовательных стадиях эмбрионального развития дрозофилы активируются три подкласса генов сегментации: гены пробела (*gap*), парного правила (*pair-rule*) и полярности сегмента. Обычно экспрессия генов *gap* регулируется продуктами одного или нескольких материнских генов. Некоторые гены *gap* кодируют транскрипционные факторы, которые влияют на экспрессию других генов сегментации или (позднее) гомеотических генов.

Примером хорошо охарактеризованного гена сегментации является ген *fushi tarazu* (*ftz*) из подкласса генов *pair-rule*. При делеции гена *ftz* у эмбриона появляется только семь сегментов вместо положенных 14, причем каждый сегмент вдвое шире нормы. Белок Fushi tarazu (Ftz) — активатор транскрипции, обладающий гомеодоменом. Матричная РНК и белки, синтезированные на основе нормального гена *ftz*, образуют удивительный рисунок в виде семи полос, опоясывающих эмбрион в задних двух третях его тела (рис. 28-41). Полосы указывают расположение формирующихся позже сегментов; если функция *ftz* нарушена, сегменты не образуются. Белок Ftz и еще несколько подобных регуляторных белков прямо или опосредованно регулируют экспрессию множества генов в каскаде развития.

Гомеотические гены. Группа из 8–11 гомеотических генов связан с развитием конкретных структур в определенных отделах тела. Эти гены теперь чаще называют **Нох-генами**; название происходит от слова «homeobox», обозначающего консервативную последовательность гена, кодирующую гомеодомен и присутствующую во всех этих генах. Однако следует учесть, что гомеодомен имеют не только белки, связанные с развитием структур организма (к примеру, описанный выше продукт гена *bicoid* тоже содержит гомеодомен); «Нох» подразумевает скорее функциональную, чем структурную классификацию. Гены *Нох* организованы в кластеры. У дрозофил есть один такой кластер, у млекопитающих их четыре (рис. 28-42). Гены в этих кластерах — от нематод до человека — удивительно похожи. У дрозофил каждый из генов *Нох* экспрессируется в определенном отделе зародыша и контролирует развитие соответствующей части тела. Терминология, использу-



появляющаяся для обозначения генов *Hox*, достаточно запутанная. Названия генов дрозофилы сложились исторически (например, *ultrabithorax*), в то время как для обозначения генов млекопитающих применяют систему букв (A, B, C, D) и цифр (1, 2, 3, 4).

Утрата гомеотических генов в результате мутации или делеции приводит к развитию нормальных придатков или структур в неправильных местах. Важным примером является ген *ultrabithorax* (*ubx*). При потере функции *Ubx*

Рис. 28-42. Гены кластера Нох и их роль в развитии организма. **а** — каждый ген *Нох* дрозофилы отвечает за развитие структур определенной части тела и экспрессируется в определенных участках зародыша, что показано с помощью разных цветов. **б** — дрозофила имеет один кластер генов *Нох*, в геноме человека таких кластеров четыре. У многоклеточных животных многие из этих генов обладают высоким уровнем консервативности. Эволюционные связи между генами кластера *Нох* дрозофилы и млекопитающих показаны пунктирными линиями. При выравнивании последовательностей аналогичные связи прослеживаются между четырьмя наборами генов *Нох* млекопитающих.

первый брюшной сегмент развивается неправильно и приобретает структуру третьего грудного сегмента. Другие мутации гомеотических генов вызывают формирование дополнительной пары крыльев или двух ног вместо антенн на голове (**рис. 28-43**). Многие гены *Hox* весьма протяженные. Например, длина гена *ubx*, составляет 77 000 п. н. Более 73 000 п. н. в составе гена приходится на интроны, один из которых имеет длину 50 000 п. н. Транскрипция гена *ubx* занимает около часа. Полагают, что задержка



а



б



в



г

Рис. 28-43. Результаты мутаций в гомеотических генах дрозофилы. а — нормальная голова. б — гомеотический мутант (*antennapedia*) с ногами вместо антенн. в — нормальное строение тела. г — гомеотический мутант (*bithorax*), у которого появился еще один грудной сегмент с дополнительной парой крыльев.

Дополнение 28-1 О плавниках, крыльях и клювах

В Южной Америке обитает несколько видов вьюрков. Около 3 млн лет назад небольшая группа вьюрков одного вида вылетела с континентального берега Тихого Океана. Возможно, из-за шторма птицы потеряли ориентацию и пролетели около 1000 км. Такие мелкие птицы могли погибнуть в подобном путешествии, однако этим вьюркам повезло, и они долетели до недавно образовавшихся вулканических островов, которые теперь мы называем Галапагосским архипелагом. Здесь было обилие растений и насекомых, и птицы выжили. Со временем образовались новые острова, которые были заселены новыми растениями и насекомыми, а также вьюрками. Птицы использовали биоресурсы островов, и постепенно выделялись отдельные группы вьюрков и превращались в новые виды. В 1835 г. на этих островах побывал Чарльз Дарвин и обнаружил множество видов вьюрков*, питавшихся семенами, фруктами, насекомыми, пыльцой и даже кровью.

* Галапагосские, или дарвиновские, вьюрки — подсемейство семейства вьюрковых, к которому относятся 14 видов птиц, 13 из которых населяют Галапагосские острова, один вид обитает на о. Кокос. — Прим. перев.

Разнообразие живых существ поражало человека задолго до того, как ученые начали исследовать его причины. Самая важная роль в этом исследовании принадлежит Дарвину, в частности, его наблюдениям за птицами Галапагосских островов. На основе теории Дарвина можно объяснить само существование организмов разного вида, но возникает вопрос о механизмах эволюционного процесса. Решение этой проблемы ученые стали находить во второй половине XX в. при изучении геномов и метаболизма нуклеиновых кислот и совсем недавно в связи с появлением нового раздела биологии — эволюционной биологии развития (сокращенно *evo-devo*), которая сочетает изучение процессов эволюции и развития.

В современном виде теория эволюции строится на двух основных положениях: мутации в популяции создают генетическое разнообразие; затем эта популяция подвергается естественному отбору, который благоприятствует распространению организмов с более полезным генетическим инструментарием и подавляет распространение остальных. В геноме каждого организма, в каждой клетке постоянно происходят мутации (см. гл. 8 в т. 1 и гл. 25). Мутации в одноклеточных организмах или в зародышевых клетках

экспрессии гена *ubx*, возникающая из-за длительной транскрипции, нужна для синхронизации процессов в общей временной регуляции последующих стадий развития. Многие гены *Hox* далее регулируются малыми интерферирующими РНК, закодированными между последовательностями генов внутри кластеров *Hox*. Все продукты генов *Hox* являются факторами транскрипции и регулируют экспрессию ряда генов на следующих стадиях развития. Эта цепочка взаимодействий все еще изучается.

Многие из рассмотренных выше принципов развития справедливы и для других эукариот, от нематоды до человека. Во многих видах функционируют одни и те же белки. Например, продукты гена *HOXA7* мыши и гена *antennapedia* дрозофилы различаются лишь одним аминокислотным остатком. Конечно, несмотря на сходство молекулярных механизмов регуляции, пути развития механизмов различны (у человека нет ни крыльев, ни антенн), что определяется генами-мише-

нями, контролируемыми генами *Hox*. Открытие структурных детерминант со специфическими молекулярными функциями — первый шаг к пониманию молекулярных событий, лежащих в основе развития. По мере идентификации новых генов и их белковых продуктов все больше проявляются биохимические аспекты этой гигантской головоломки.

При обсуждении регуляции развития мы сделали круг и вернулись к биохимическим началам — и фигурально, и буквально. Самые первые и самые последние рассуждения в данной книге относятся к теме эволюции. Если эволюция состоит в генерации изменений, приводящих к появлению различных видов организмов, она непременно должна затрагивать программу развития организма. Процессы эволюции и развития тесно связаны между собой (доп. 28-1). Биохимия как наука призвана помочь человечеству одновременно развиваться в будущем и понять собственное происхождение в прошлом.

многоклеточных организмов могут наследоваться, причем вероятность наследования (т. е. передача мутации значительной части потомства) увеличивается, если такая мутация дает определенное преимущество. Это очевидная схема. Однако многие ученые сомневались в том, может ли такая схема объяснить, скажем, разнообразие формы клюва галапагосских вьюрков или разнообразие форм и размеров млекопитающих. До последних десятилетий существовало несколько широко распространенных гипотез эволюционного процесса. Считалось, что для появления новой физической структуры необходимо множество мутаций и новые гены, сложные организмы должны иметь более крупный геном и у сильно различающихся видов мало общих генов. Все эти предположения оказались ошибочными.

Современные исследования показали, что в геноме человека содержится меньше генов, чем предполагалось, — немного больше, чем в геноме дрозофилы, и меньше, чем в геноме некоторых земноводных. Геномы всех млекопитающих — от мыши до человека — удивительно похожи по числу, типу и хромосомному расположению генов. Однако эволюционная биология развития объясняет, как на таком генетиче-

ском базисе могут эволюционировать сложные и очень разнообразные создания.

В конце XIX в. английский биолог Уильям Бейтсон изучал различных мутантных животных, вроде тех, что изображены на рис. 28-43. На основании своих наблюдений он оспаривал утверждение Дарвина о том, что эволюционные изменения должны быть постепенными. Современные исследования генов, контролирующих развитие организма, подтвердили идеи Бейтсона. Незначительные изменения механизмов регуляции в ходе развития, возникающие в результате лишь одной или нескольких мутаций, могут привести к физическим изменениям и удивительно быстрой эволюции.

Галапагосские вьюрки — прекрасный пример, демонстрирующий связь между эволюцией и развитием. Существует 14 (некоторые специалисты называют 15) видов галапагосских вьюрков, основные различия между которыми заключаются в строении клювов. У земляных вьюрков, например, широкий тяжелый клюв, предназначенный для раскалывания крупных и прочных зерен. У кактусовых вьюрков клюв

Дополнение 28-1 О плавниках, крыльях и клювах (продолжение)

более длинный и тонкий, он идеально подходит для проникновения в плоды и цветки кактусов (рис. 1). Клиффорд Табин с коллегами тщательно проанализировали набор генов, экспрессирующихся в ходе развития головы птиц. Они идентифицировали единственный ген, *Vmp4*, уровень экспрессии которого коррелирует с образованием более мощного клюва у земляных вьюрков. В экспериментальных условиях более высокий уровень экспрессии гена *Vmp4* в соответствующих тканях также вызывает образование более крепких клювов у зародышей кур, что подтверждает значение гена *Vmp4*. В аналогичном исследовании было показано, что формирование более длинного и тонкого клюва коррелирует с экспрессией гена кальмодулина (см. рис. 12-11 в т. 1) в определенных тканях на определенной стадии развития. Таким образом, значительные изменения формы и функций клюва могут быть вызваны небольшими изменениями экспрессии всего двух генов, участвующих в регуляции развития. Нужно лишь несколько мутаций, но они должны затрагивать механизмы регуляции. Новые гены *не нужны*.

У всех позвоночных система регуляторных генов, ответственных за развитие, очень консервативна. Повышение уровня экспрессии *Vmp4* в нужной ткани и в нужное время приводит к формированию более

мощной челюсти у полосатых данио. Тот же ген играет ключевую роль в развитии зубов млекопитающих. Развитие глаз дрозофил и млекопитающих запускается экспрессией одного и того же гена. *Pax6*. Мышиный ген *Pax6* запускает развитие нормальных глаз мушки у дрозофилы, а ген *Pax6* дрозофилы запускает развитие мышиных глаз у мыши. В каждом организме эти гены являются частью сложного регуляторного каскада, который в конечном итоге приводит к образованию правильных структур в правильном месте в каждом организме. Это очень древний каскад. Например, описанные гены *Hox* участвовали в развитии многоклеточных эукариот на протяжении более 500 млн лет. Незначительные изменения регулярного каскада оказывают сильное влияние на развитие и, следовательно, на внешний вид организма. Эти же незначительные изменения могут стать толчком для необычайно быстрой эволюции. Например, от 400 до 500 известных видов цихлид (окуневых рыб), обитающих в озерах Малави и Виктория на Африканском континенте, происходят от одной или от небольшого числа популяций, населявших эти озера 100–200 тыс. лет назад. Птицы Галапагосских островов прошли свой заключительный путь эволюции, который у других живых существ занял миллиарды лет.

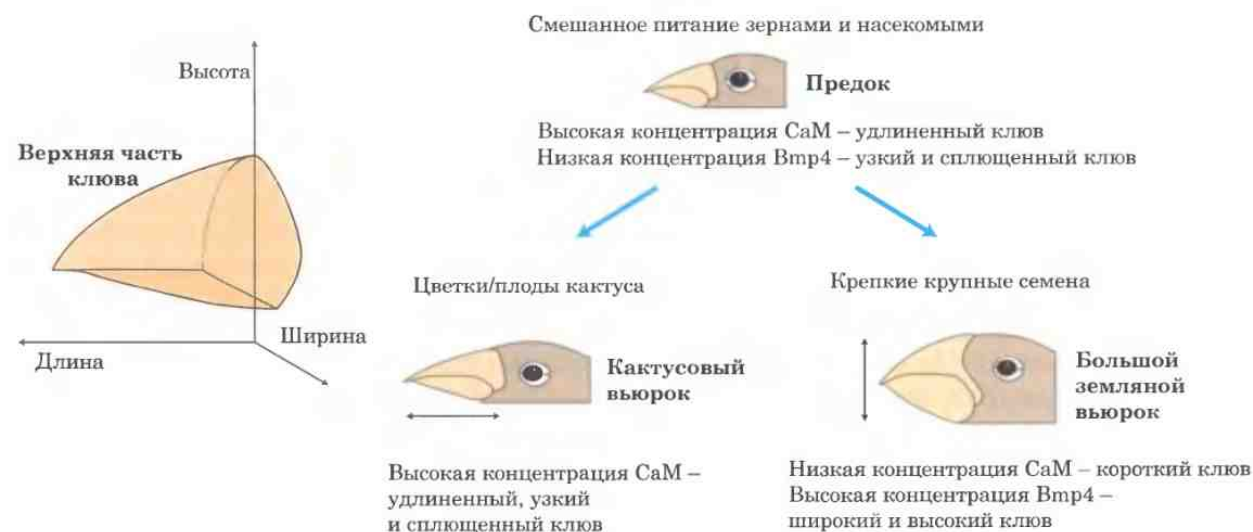


Рис. 1. Эволюция строения клюва для приспособления к новым источникам пищи. Различие в строении клювов у двух видов галапагосских вьюрков (кактусового вьюрка и крупного земляного вьюрка), питающихся по-разному, в значительной степени объясняется небольшим числом мутаций, которые изменили время и уровень экспрессии всего двух генов — гена кальмодулина и гена *Vmp4*.

Краткое содержание раздела 28.3

РЕГУЛЯЦИЯ ЭКСПРЕССИИ ГЕНОВ У ЭУКАРИОТ

- Для эукариотических генов более характерна положительная регуляция, чем отрицательная, и транскрипция сопровождается большими изменениями структуры хроматина.
- Типичные промоторы Pol II содержат ТАТА-бокс и последовательность Inr, а также многочисленные участки связывания активаторов транскрипции. Последние иногда расположены за сотни или тысячи пар оснований от ТАТА-бокса; в дрожжах они называются активирующими последовательностями (UAS), а в высших эукариотах — энхансерами.
- Для регуляции транскрипции обычно требуются крупные белковые комплексы. Влияние активаторов транскрипции на Pol II опосредовано ко-активаторными белковыми комплексами, такими как медиатор. Активаторы содержат отдельные домены, отвечающие за активацию и за связывание ДНК. Другие белковые комплексы, включая гистонацетилазотрансферазы и АТФ-зависимые комплексы, такие как SWI/SNF и NURF, обратимо перестраивают и модифицируют структуру хроматина.
- Гормоны регулируют экспрессию генов одним из двух способов. Стероидные гормоны напрямую взаимодействуют с внутриклеточными рецепторами, которые являются ДНК-связывающими регуляторными белками; связывание гормона либо усиливает, либо ослабляет транскрипцию генов-мишеней. Нестероидные гормоны связываются с рецепторами на клеточной поверхности, запуская сигнальный путь, который может привести к фосфорилированию регуляторного белка и изменить его активность.
- Регуляция экспрессии генов при участии молекул РНК играет важную роль в эукариотических клетках, причем число известных механизмов такой регуляции продолжает расти.
- Развитие многоклеточного организма регулируется очень сложно. Судьба клеток в ран-

нем эмбрионе определяется путем формирования передне-заднего и спинно-брюшного градиентов белков, которые действуют как активаторы транскрипции или репрессоры трансляции, регулируя экспрессию генов, необходимых для развития определенных структур в определенных частях тела. Группы регуляторных генов последовательно действуют во времени и пространстве, превращая отдельные зоны яйцеклетки в структуры взрослого организма.

Ключевые термины

Термины, выделенные жирным шрифтом, объясняются в глоссарии.

сАМР-рецепторный белок (CRP) 244	лейциновая молния 241
SWI/SNF 259	материнские гены 273
ТАТА-связывающий белок (TBP) 262	материнские мРНК 273
активатор 232	медиатор 262
активаторы транскрипции 261	метамерия 272
активирующая последовательность (UAS) 261	микро-РНК 270
аттенуация транскрипции 246	морфогены 272
белки с высокой электрофоретической подвижностью (HMG) 262	нкРНК 271
гены домашнего хозяйства 230	оператор 232
гены парного правила (pair-rule) 273	оперон 234
гены полярности сегментов 274	основная спираль–петля–спираль 241
гены пробела (gap) 273	основные факторы транскрипции 261
гены сегментации 273	отрицательная регуляция 232
гистонацетилазотрансферазы (HAT) 258	положительная регуляция 232
гомеобокс 241	полярность 271
гомеодомен 241	преинициаторный комплекс (PIC) 262
гомеотические гены 276	регулон 245
гормон-чувствительные элементы (HRE) 266	ремоделирование хроматина 258
индукция 230	репрессия 231
интерференция РНК 270	репрессор 232
катаболическая репрессия 244	репрессор трансляции 250
ко-активаторы 261	рибопереключатель 253
	спираль–поворот–спираль 239
	строгий ответ 251
	фазовая вариация 254
	факторы специфичности 232
	цинковый палец 239
	энхансеры 233

Дополнительная литература для дальнейшего изучения

Общая литература

Carroll, S. B. (2005) *Endless Forms Most Beautiful: The New Science of Evo Devo and the Making of the Animal Kingdom*, W. W. Norton & Company, New York.

Интересное описание того, как биология развития дополняет эволюционную биологию.

Müller-Hill, B. (1996) *The lac Operon: A Short History of a Genetic Paradigm*, Walter de Gruyter, New York.

Прекрасный подробный обзор исследований этой важной системы.

Neidhardt, F. C. (ed.). (1996) *Escherichia coli and Salmonella typhimurium*, 2nd edn, Vol. 1: *Cellular and Molecular Biology* (Curtiss, R., Ingraham, J. L., Lin, E. C. C., Magasanik, B., Low, K. B., Reznikoff, W. S., Riley, M., Schaechter, M., & Umberger, H. E., vol. eds), American Society for Microbiology, Washington, DC.

Прекрасный обзор многих бактериальных оперонов. Сетевая версия, EcoSal, регулярно обновляется.

Sarai, A. & Kono, H. (2005) Protein-DNA recognition patterns and predictions. *Annu. Rev. Biophys. Biomol. Struct.* **34**, 379–398.

Описание современных методов, включая геномику, в приложении к анализу механизмов регуляции генов.

von Hippel, P. H. (2007) From “simple” DNA-protein interactions to the macromolecular machines of gene expression. *Annu. Rev. Biophys. Biomol. Struct.* **36**, 79–105.

Подробное описание биофизических закономерностей ДНК-белковых взаимодействий и их роли в регуляции генов.

Регуляция экспрессии генов бактерий

Barrick, J. E. & Breaker, R. R. (2007) The power of riboswitches: discovering relics from a lost world run by RNA molecules may lead to modern tools for fighting disease. *Sci. Am.* (January), 50–57.

Coppins, R. L., Hall, K. B., & Groisman, E. A. (2007) The intricate world of riboswitches. *Curr. Opin. Microbiol.* **10**, 176–181.

Gourse, R. L., Gaal, T., Bartlett, M. S., Appleman, J. A., & Ross, W. (1996) rRNA transcription and growth rate-dependent regulation of ribosome synthesis in *Escherichia coli*. *Annu. Rev. Microbiol.* **50**, 645–677.

Jacob, F. & Monod, J. (1961) Genetic regulatory mechanisms in the synthesis of proteins. *J. Mol. Biol.* **3**, 318–356.

В этой исторической статье представлены модель оперона и концепция матричной РНК, впервые изложенные этими авторами в *Трудах Французской академии наук* в 1960 г.

Johnson, R. C. (1991) Mechanism of site-specific DNA inversion in bacteria. *Curr. Opin. Genet. Dev.* **1**, 404–411.

Kolb, A., Busby, S., Buc, H., Garges, S., & Adhya, S. (1993) Transcriptional regulation by cAMP and its receptor protein. *Annu. Rev. Biochem.* **62**, 749–795.

Romby, P. & Springer, M. (2003) Bacterial translational control at atomic resolution. *Trends Genet.* **19**, 155–161.

Storz, G., Altuvia, S., & Wassarman, K. M. (2005) An abundance of RNA regulators. *Annu. Rev. Biochem.* **74**, 199–217.

В обзоре рассмотрены и бактерии, и эукариоты.

Winkler, W. C. & Breaker, R. R. (2005) Regulation of bacterial gene expression by riboswitches. *Annu. Rev. Microbiol.* **59**, 487–517.

Yanofsky, C., Konan, K. V., & Sarsero, J. P. (1996) Some novel transcription attenuation mechanisms used by bacteria. *Biochimie* **78**, 1017–1024.

Регуляция экспрессии генов эукариот

Agami, R. (2002) RNAi and related mechanisms and their potential use for therapy. *Curr. Opin. Chem. Biol.* **6**, 829–834.

Bashirullah, A., Cooperstock, R. L., & Lipshitz, H. D. (1998) RNA localization in development. *Annu. Rev. Biochem.* **67**, 335–394.

Björklund, S. & Gustafsson, C. M. (2005) The yeast mediator complex and its regulation. *Trends Biochem. Sci.* **30**, 240–244.

Cerutti, H. (2003) RNA interference: traveling in the cell and gaining functions? *Trends Genet.* **19**, 9–46.

Conaway, R. C., Brower, C. S., & Conaway, J. W. (2002) Gene expression — emerging roles of ubiquitin in transcription regulation. *Science* **296**, 1254–1258.

Conaway, R. C., Sato, S., Tomomori-Sato, C., Yao, T., & Conaway, J. W. (2005) The mammalian mediator complex and its role in transcriptional regulation. *Trends Biochem. Sci.* **30**, 250–255.

Gingras, A.-C., Raught, B., & Sonenberg, N. (1999) eIF4 initiation factors: effectors of mRNA recruitment to ribosomes and regulators of translation. *Annu. Rev. Biochem.* **68**, 913–963.

Goodrich, J. A. & Kugel, J. F. (2006) Non-coding RNA regulators of RNA polymerase II transcription. *Nat. Rev. Mol. Cell Biol.* **7**, 12–616.

Gray, N. K. & Wickens, M. (1998) Control of translation initiation in animals. *Annu. Rev. Cell Dev. Biol.* **14**, 399–458.

Hannon, G. J. (2002) RNA interference. *Nature* **418**, 244–251.

Kapranov, P., Willingham, A. T., & Gingeras, T. R. (2007) Genome-wide transcription and the implications for genomic organization. *Nat. Rev. Genet.* **8**, 413–423.

О значении недавно обнаруженных уровней транскрипции большей части геномной ДНК млекопитающих.

Keene, J. D. (2007) RNA regulons: coordination of post-transcriptional events. *Nat. Rev. Genet.* **8**, 533–543.

- Kim, Y.-J. & Lis, J. T.** (2005) Interactions between subunits of *Drosophila* mediator and activator proteins. *Trends Biochem. Sci.* **30**, 245–249.
- Klose, R. J. & Zhang, Y.** (2007) Regulation of histone methylation by demethylination and demethylation. *Nat. Rev. Mol. Cell Biol.* **8**, 307–318.
- Kornberg, R. D.** (2005) Mediator and the mechanism of transcriptional activation. *Trends Biochem. Sci.* **30**, 236–239.
- Luger, K.** (2003) Structure and dynamic behavior of nucleosomes. *Curr. Opin. Genet. Dev.* **13**, 127–135.
- Prud'homme, B., Gompel, N., & Carroll, S. B.** (2007) Emerging principles of regulatory evolution. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* **104**, 8605–8612.
- Reese, J. C.** (2003) Basal transcription factors. *Curr. Opin. Genet. Dev.* **13**, 114–118.
- Rivera-Pomar, R. & Jackle, H.** (1996) From gradients to stripes in *Drosophila* embryogenesis: filling in the gaps. *Trends Genet.* **12**, 478–483.
- Saha, A., Wittmeyer, J., & Cairns, B. R.** (2006) Chromatin remodeling: the industrial revolution of DNA around histones. *Nat. Rev. Mol. Cell Biol.* **7**, 437–447.
- Saunders, A., Core, L. J., & Lis, J. T.** (2006) Breaking barriers to transcription elongation. *Nat. Rev. Mol. Cell Biol.* **7**, 557–567.
- Shahbazian, M. D. & Grunstein, M.** (2007) Functions of site-specific histone acetylation and deacetylation. *Annu. Rev. Biochem.* **76**, 75–100.
- Struhl, K.** (1999) Fundamentally different logic of gene regulation in eukaryotes and prokaryotes. *Cell* **98**, 1–4.
- Thomas, M. C. & Chiang, C.-M.** (2006) The general transcription machinery and general cofactors. *Crit. Rev. Biochem. Mol. Biol.* **41**, 105–178.
- Waterhouse, P. M. & Helliwell, C. A.** (2003) Exploring plant genomes by RNA-induced gene silencing. *Nat. Rev. Genet.* **4**, 29–38.

Вопросы и задачи

1. Влияние стабильности мРНК и белка на регуляцию. Предположим, клетки *E. coli* растут в среде, где единственным источником углерода служит глюкоза. Затем в среду добавляют триптофан. Клетки продолжают расти и делиться каждые 30 мин. Опишите качественные изменения во времени уровня активности триптофансинтазы в клетках при следующих условиях:

а) мРНК триптофана стабильна (медленно разрушается на протяжении многих часов).

б) мРНК триптофана быстро расщепляется, но триптофансинтаза стабильна.

в) мРНК триптофана и триптофансинтаза быстро разрушаются.

2. Отрицательная регуляция. Опишите возможное влияние на регуляцию генов *lac*-оперона следующих мутаций: (а) в *lac*-операторе делетирована большая часть O_1 ; (б) мутация гена *lacI* инактивирующая репрессор; (в) в промоторе изменена область вокруг позиции -10 .

3. Специфичность связывания ДНК с регуляторными белками. Типичный бактериальный репрессорный белок в 10^4 – 10^6 раз эффективнее связывается со специфическим участком ДНК (оператором), чем с неспецифической последовательностью ДНК. Для обеспечения эффективной репрессии достаточно 10 молекул репрессора на клетку. Предположим, в клетке человека есть очень похожий репрессор с такой же специфичностью к своему участку связывания. Сколько копий репрессора нужно, чтобы достичь такой же эффективности репрессии, как в бактериальной клетке? *Подсказка.* Геном *E. coli* содержит около 4,6 млн п. н.; гаплоидный геном человека — около 3,2 млрд п. н.

4. Концентрация репрессора в *E. coli*. Константа диссоциации комплекса репрессор–оператор очень низкая (около 10^{-13} М). Клетка *E. coli* (объем $2 \cdot 10^{-12}$ мл) содержит 10 копий репрессора. Вычислите клеточную концентрацию белка-репрессора. Сравните эту величину с константой диссоциации комплекса репрессор–оператор. Каков смысл этого результата?

5. Катаболитная репрессия. Клетки *E. coli* растут в среде с лактозой, но без глюкозы. Укажите, повлияют ли перечисленные ниже изменения или условия на экспрессию *lac*-оперона (усилит, ослабит или не вызовут изменений). Возможно, полезно изобразить модель, описывающую каждую ситуацию.

а) Добавление глюкозы в высокой концентрации.

б) Мутация, предотвращающая отсоединение Lac-репрессора от оператора.

в) Мутация, полностью инактивирующая β -галактозидазу.

г) Мутация, полностью инактивирующая галактозидпермеазу.

д) Мутация, препятствующая взаимодействию CRP с участком связывания вблизи промотора.

6. Аттенуация транскрипции. Как изменится транскрипция *trp*-оперона *E. coli* при следующих изменениях в лидерном участке мРНК триптофана?

а) Увеличение расстояния (числа оснований) между геном лидерного пептида и последовательностью 2.

б) Увеличение расстояния между последовательностями 2 и 3.

в) Удаление последовательности 4.

г) Замена двух кодонов Trp в гене лидерного пептида на кодоны His.

д) Удаление участка связывания рибосомы в гене лидерного пептида.

е) Изменение нескольких нуклеотидов в последовательности 3, в результате чего она может спариваться с последовательностью 4, но не с последовательностью 2.

7. Репрессоры и репрессия. Как может повлиять на SOS-ответ в *E. coli* мутация гена *lexA*, которая предотвращает автокаталитическое расщепление белка LexA?

8. Регуляция путем рекомбинации. Что произойдет с клетками, если рекомбиназа Hin в системе фазовой вариации у *Salmonella* станет более активной и будет осуществлять рекомбинацию (инверсию ДНК) несколько раз в каждой клеточной генерации?

9. Инициация транскрипции в клетках эукариот. В грубом экстракте из экзотического гриба была обнаружена новая активность РНК-полимеразы. Эта РНК-полимераза иницирует транскрипцию с единственного специализированного промотора. При очистке полимеразы ее активность постепенно снижалась, а чистый фермент был полностью неактивным, если только в реакционную смесь не добавляли грубый экстракт. Объясните эти наблюдения.

10. Функциональные домены в регуляторных белках. Биохимик заменил ДНК-связывающий домен дрожжевого белка Gal4 ДНК-связывающим доменом Lac-репрессора и обнаружил, что сконструированный белок не ре-

гулирует транскрипцию генов *GAL* в дрожжах. Изобразите схему функциональных доменов белка Gal4 и химерного белка. Почему химерный белок не регулирует транскрипцию генов *GAL*? Что нужно изменить в последовательности ДНК, с которой связывается химерный белок, чтобы он мог активировать транскрипцию генов *GAL*?

11. Модификация нуклеосом при активации транскрипции. При подготовке участков генома к транскрипции происходит ацетилирование и метилирование специфических аминокислотных остатков гистонов в соответствующих нуклеосомах. Когда транскрипция завершена, необходимо вернуть модифицированные остатки в прежнее состояние. У млекопитающих метилирование остатков Arg в гистонах снимается под действием пептидиларгининдеиминазы. Однако в результате этой реакции образуется не метилированный аргинин, а цитруллин. Каков второй продукт этой реакции? Предложите возможный механизм.

12. Механизмы наследования в развитии. Яйца дрозофилы с генотипом *bcd*⁻/*bcd*⁻ могут развиваться нормально, но взрослые насекомые с таким генотипом не производят жизнеспособного потомства. Объясните этот факт.

Биохимия в интернете

13. ТАТА-связывающий белок и ТАТА-бокс. Чтобы исследовать взаимодействие между факторами транскрипции и ДНК, войдите в базу данных FirstGlance в Jmol на сайте <http://firstglance.jmol.org> и загрузите файл PDB ID 1TGH. Этот файл моделирует взаимодействия между ТАТА-связывающим белком человека и участком двухцепочечной ДНК. Когда структура загрузится, выберите опцию "Spin", чтобы молекула перестала вращаться. Далее нажмите ссылку "Contacts". При выборе функции "Chains" кликните на любую часть белка (цепь А голубого цвета), чтобы выбрать соответствующую цепь. Кликните "Show Atoms Contacting Target" и в появившемся списке найдите функцию "Show putatively hydrogen-bonded non-water" (показать возможные водородные связи не с водой), чтобы увидеть водородные связи между этим белком и ТАТА-боксом ДНК. Затем кликните на самую правую кнопку для получения изображения (Maximum detail: Target

& Contacts Balls and Sticks, Colored by Element). Теперь вы сможете приближать и поворачивать структуру. Ответьте на следующие вопросы.

а) Какие пары оснований в ДНК образуют водородные связи с белком? Какие из них вносят вклад в специфическое узнавание ТАТА-бокса этим белком? (Длина водородной связи между донором и акцептором водорода находится в диапазоне 2,5–3,3 Å).

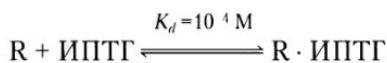
б) Остатки каких аминокислот в белке взаимодействуют с этими парами оснований?

в) Какая последовательность ДНК представлена в этой модели и какие части этой последовательности узнаются ТАТА-связывающим белком?

г) Укажите зоны гидрофобных взаимодействий в этом комплексе. Они единичные или многочисленные? Чтобы ответить на этот вопрос, кликните на “Return to contacts” и воспользуйтесь опцией “Show hydrophobic (apolar van der Waals) interactions”.

Анализ экспериментальных данных —

14. Конструирование генетического переключателя в клетках *Escherichia coli*. Регуляцию экспрессии генов часто описывают в терминах «включен/выключен», подразумевая при этом, что ген либо экспрессируется, либо не экспрессируется. На самом деле в подавлении и активации экспрессии играют роль лиганды, поэтому при промежуточном содержании регуляторных молекул может наблюдаться промежуточный уровень экспрессии. Например, рассмотрим уравнение связывания Lac-репрессора, оператора и индуктора для *lac*-оперона *E. coli* (см. рис. 28-7). Это сложный кооперативный процесс, однако в определенном приближении его можно описать с помощью следующего уравнения (R — репрессор, ИПТГ — индуктор, — изопропил-β-D-тиогалактозид):



Свободный репрессор R связывается с оператором и предотвращает транскрипцию *lac*-оперона; комплекс R-ИПТГ не связывается с оператором и, следовательно, транскрипция *lac*-оперона происходит.

а) С помощью уравнения (5-8) можно определить относительный уровень экспрессии белков *lac*-оперона как функцию concentra-

ции индуктора [ИПТГ]. Используйте эти расчеты для определения диапазона концентрации ИПТГ, когда уровень экспрессии изменяется от 10% до 90%.

б) На качественном уровне оцените содержание белков *lac*-оперона в клетках *E. coli* до, во время и после действия ИПТГ. Не нужно указывать точное количество белка в точно определенные моменты времени, просто укажите тенденцию.

Гарднер, Кантор и Коллинс (2000) попытались создать «генетический тумблер» — систему регуляции генов с двумя ключевыми положениями, как у электрического выключателя. (А) *В таком выключателе есть только два положения: включен — выключен*; он не может поддерживать какую-то пониженную освещенность. В биохимических терминах это означает, что ген-мишень или группа генов (оперон) либо экспрессируется, либо не экспрессируется совсем, а промежуточный уровень экспрессии невозможен. (Б) *Оба состояния устойчивы*: вы можете изменять положение выключателя пальцем, но когда вы отпускаете палец, выключатель остается в заданном положении. В биохимических терминах это означает, что под воздействием индуктора или другого сигнала экспрессия гена или оперона включается или выключается и остается в этом состоянии и после прекращения сигнала.

в) Объясните, почему *lac*-оперон не обладает характеристиками А и Б.

Для создания «генетического тумблера» Гарднер с сотрудниками сконструировали плазмиду, состоящую из следующих элементов:

OP_{lac} область оператора и промотора *lac*-оперона *E. coli*

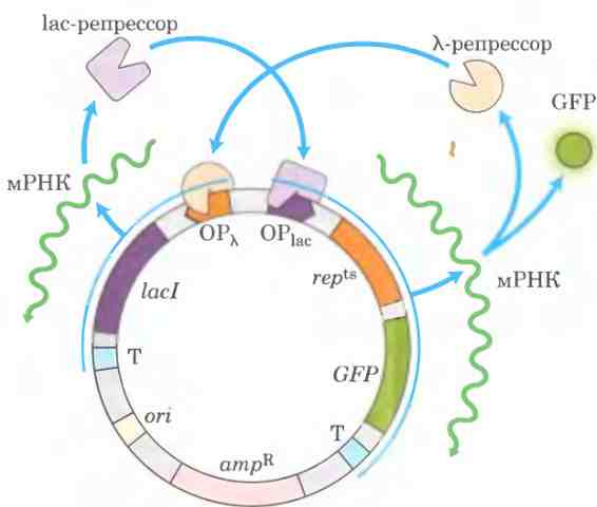
OP_λ область оператора и промотора фага λ
lacI ген *lac*-репрессора, LacI. В отсутствие ИПТГ этот белок полностью подавляет OP_{lac}; в присутствии ИПТГ он позволяет осуществлять нормальную экспрессию с OP_{lac}.

rep^{ts} ген мутантного термочувствительного белка-репрессора фага λ, rept^{ts}. При 37 °C этот белок полностью подавляет OP_λ; при 42 °C он позволяет осуществлять нормальную экспрессию с OP_λ.

GFP ген зеленого флуоресцентного белка (GFP) — интенсивно флуоресцирующего маркерного белка (см. рис. 9-15 в т. 1)

T терминатор транскрипции

Эти элементы (см. рисунок) были размещены таким образом, что два промотора взаимно подавляли друг друга: OP_{lac} контролировал экспрессию rep^{ts} , а OP_{λ} контролировал экспрессию $lacI$. Состояние системы оценивали по уровню экспрессии GFP, который также находился под контролем OP_{lac} .



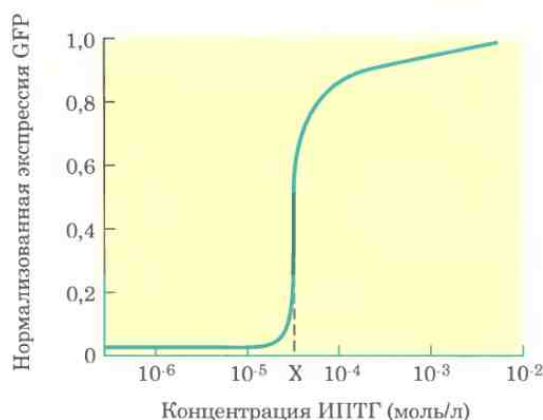
г) Сконструированная система могла находиться в двух состояниях: «GFP включен» (высокий уровень экспрессии) и «GFP выключен» (низкий уровень экспрессии). Опишите, какие белки присутствуют и какие промоторы экспрессируются в каждом из двух состояний.

д) Можно было ожидать, что обработка IPTG переведет систему из одного состояния в другое. Из какого в какое? Объясните свои рассуждения.

е) Можно было ожидать, что повышение температуры до 42 °C также вызовет переход системы из одного состояния в другое. Из какого в какое? Объясните свои рассуждения.

ж) Почему сконструированная плазмида должна была иметь описанные выше характеристики А и Б?

Для подтверждения того, что конструкция действительно обладала указанными характеристиками, Гарднер с соавторами сначала показали, что после включения/выключения экспрессия GFP (высокая/низкая) остается на том же уровне на протяжении длительного времени (свойство Б). Затем они измерили уровень GFP при разных концентрациях ИПТГ и получили следующие результаты.



Оказалось, что *средний* уровень экспрессии GFP имел некое промежуточное значение при концентрации ИПТГ, равной X. Однако при измерении уровня экспрессии GFP в *индивидуальных клетках* при [ИПТГ] = X выяснилось, что уровень GFP был либо низким, либо высоким, но ни в одной клетке не было промежуточного уровня экспрессии этого белка.

з) Объясните, как это наблюдение подтверждает тот факт, что система обладает свойством А? Почему при [ИПТГ] = X в одних клетках наблюдается высокий, а в других низкий уровень экспрессии маркерного белка?

Литература

Gardner, T. S., Cantor, C. R., & Collins, J. J. (2000) Construction of a genetic toggle switch in *Escherichia coli*. *Nature* 403, 339–342.

Принятые в биохимии сокращения и аббревиатуры

Å — ангстрем	CFTR — белок-регулятор мембранной проводимости хлорных каналов
A — аденин, аденозин или аденилат	cGMP — циклический 3',5'-GMP
A — абсорбция	Chl (Хлф) — хлорофилл
Ab (AT) — антитело	ChREBP — белок, связывающий углевод-чувствительный элемент (фактор транскрипции)
ABC — АТФ-связывающая кассета	CKII — казеинкиназа II
ACAT — ацил-СоА-холестерин-ацилтрансфераза	CL — кардиолипин
ACC — ацетил-СоА-карбоксилаза	CMP, CDP, CTP — цитидин-5'-моно-, -ди-, -трифосфат
ACh (AX) — ацетилхолин	CoA — кофермент А (CoASH)
ACP — ацилпереносящий белок	COHb — карбоксигемоглобин
ACT (AKTG) — адренокортикотропный гормон	CoQ — кофермент Q (убихинон, UQ)
acyl-CoA — ацил-производные кофермента А (или ацил-S-CoA)	COX — циклооксигеназа; цитохромоксидаза
ADH — алкогольдегидрогеназа	CREB — белок, связывающий cAMP-чувствительный элемент (фактор транскрипции)
adoHcy — S-аденозилгомоцистеин	CRP — cAMP-рецепторный белок
adoMet — S-аденозилметионин (SAM)	Cys — цистеин
AFM (ACM) — атомно-силовая микроскопия	Cyt — цитохром
Ag (AG) — антиген	D — дигидроуридин
AGE — конечный продукт гликирования	D — коэффициент диффузии
AIDS (СПИД) — синдром приобретенного иммунодефицита	d (ρ) — плотность
AKAP — белок, заякоривающий киназу А	dADP, dGDP и т. д. — дезоксиаденозин-5'-дифосфат, дезоксигуанозин-5'-дифосфат и т. д.
Ala — аланин	dAMP, dGMP и т. д. — дезоксиаденозин-5'-монофосфат, дезоксигуанозин-5'-монофосфат и т. д.
[α] _D ^{25°C} — удельное (оптическое) вращение	dATP, dGTP и т. д. — дезоксиаденозин-5'-трифосфат, дезоксигуанозин-5'-трифосфат и т. д.
AMP, ADP, ATP — аденозин-5'-моно-, -ди-, -трифосфат	DEAE — диэтиламиноэтил
AMPK — AMP-активируемая протеинкиназа	DFP — диизопропилфлуорофосфат (DIFP)
ANF — атриальный натрийуретический фактор	DHAP — дигидроксиацетонфосфат
AQP — аквапорин	DHF — дигидрофолат (H ₂ -фолат)
Arg — аргинин	DMS — диметилсульфат
ARS — автономно реплицирующаяся последовательность	DNA — дезоксирибонуклеиновая кислота
Asn — аспарагин	Dnase (ДНКаза) — дезоксирибонуклеаза
Asp — аспарагиновая кислота (аспартат)	DNP (ДНФ) — 2,4-динитрофенол
ATCase — аспартаттранскарбамоилаза	Dol — долихол
atm (атм) — атмосфера	dopa (дофа) — дигидроксифенилаланин
ATPase (АТРаза) — аденозинтрифосфатаза	E — электрический потенциал
B ₁₂ — кофермент B ₁₂ , кобаламин	Е.С. — Комиссия по ферментам (после номера фермента по его формальной классификации)
BAC — искусственная бактериальная хромосома	ECM — внеклеточный матрикс
BAT — бурая жировая ткань	EDTA (ЭДТА) — этилендиаминтетраацетат
BMR — базовый уровень метаболизма	EF — фактор элонгации
bp (п. н.) — пары нуклеотидов	EGF — эпидермальный фактор роста
1,3-BPG (1,3-БФГ) — 1,3-бисфосфоглицерат	ELISA (ИФА) — иммунофлуоресцентный анализ
C — цитозин, цитидин или цитидилат	ЕМ (ЭМ) — электронная микроскопия
SAM — метаболизм органических кислот по типу толстянковых	emf (эдс) — электродвижущая сила
CaM — кальмодулин	EPO — эритропоэтин
cAMP — циклический 3',5'-AMP	ε — молярный коэффициент абсорбции
CD (КД) — круговой дихроизм	ER (ЭР) — эндоплазматический ретикулум
CDK — циклинзависимая протеинкиназа	
cDNA (кДНК) — комплементарная ДНК	

EST — метка экспрессируемой последовательности
 η — вязкость
 $F(\Phi)$ — фарад
 f — коэффициент трения
 FA (ЖК) — жирная кислота
 G6PD — глюкозо-6-фосфатдегидрогеназа
 FAD (ФАД), $FADH_2$ (ФАДН₂) — флавинадениндину-
 клеотид и его восстановленная форма
 FAS — синтез жирных кислот
 FBPasc-1 — фруктозо-1,6-бисфосфатаза
 FBPasc-2 — фруктозо-2,6-бисфосфатаза
 Fd (Фд) — ферредоксин
 FDNB (DNFB) — 1-фтор-2,4-динитробензол
 F_oF_1 — митохондриальная АТФ-синтаза
 FFA (СЖК) — свободная (неэтерифицированная)
 жирная кислота
 FH (СГ) — семейная гиперхолестеринемия
 fMet — N-формилметионин
 FMN, $FMNH_2$ (ФМН, ФМН·Н₂) — флавиномонону-
 клеотид и его восстановленная форма
 FOXO1 — фактор транскрипции; от англ. *forkhead box*
O1
 FP — флавопротеин
 F1P — фруктозо-1-фосфат
 F6P — фруктозо-6-фосфат
 FRAP — восстановление флуоресценции после фото-
 выцветания
 FRET — резонансный перенос энергии флуоресцен-
 ции
 Fru — D-фруктоза
 ΔG — изменение свободной энергии
 ΔG° — изменение стандартной свободной энергии
 ΔG° — изменение приведенной стандартной сво-
 бодной энергии в биоимических стандартных
 состояниях
 ΔG^* — энергия активации
 ΔG_B — энергия связывания
 ΔG_p — изменение свободной энергии гидролиза АТФ
 (потенциал фосфорилирования) во внутрикле-
 точных условиях
 G — гуанин, гуанозин или гуанилат
 g — ускорение свободного падения
 GABA (ГАМК) — γ -аминомасляная кислота
 Gal — D-галактоза
 GalN — D-галактозамин
 GalNAc — N-ацетил-D-галактозамин
 GAP — глицеральдегид-3-фосфат; белок-активатор
 ГТРаза
 GDH — глутаматдегидрогеназа
 GEF — фактор обмена гуаниновых нуклеотидов
 GFP — зеленый флуоресцентный белок
 GH (ГР) — гормон роста
 GHB — гликированный гемоглобин
 GLC (ГЖХ) — газожидкостная хроматография

Glc — D-глюкоза
 GlcA — D-глюконовая кислота
 GlcN — D-глюкозамин
 GlcNAc — N-ацетил-D-глюкозамин (NAG)
 GlcUA — D-глюкуроновая кислота
 Gln — глутамин
 Glu — глутаминовая кислота, глутамат
 GLUT — транспортер глюкозы
 Gly — глицин
 GMP, GDP, GTP — гуанозин-5'-моно-, -ди-, трифосфат
 GPCR — рецептор, сопряженный с G-белком
 GPI — гликозилированное производное фосфатиди-
 линозита
 G1P — глюкозо-1-фосфат
 G6P — глюкозо-6-фосфат
 GRK — киназа, сопряженная с G-белком
 GSH, GSSG — глутатион и его окисленная форма
 GSK3 — киназа 3-гликогенсинтазы
 ΔH — изменение энтальпии
 HA — белок гемагглютинин
 Hb, HbO₂ — гемоглобин, оксигемоглобин, окислен-
 ный гемоглобин
 HDL (ЛПВП) — липопротеины высокой плотности
 H₂ folate (H₂-фолат) — дигидрофолат (DHF)
 H₄ folate (H₄-фолат) — тетрагидрофолат (THF)
 HIF — индуцируемый гипоксией транскрипционный
 фактор
 His — гистидин
 HIV (ВИЧ) — вирус иммунодефицита человека
 HMG-CoA — β -гидрокси- β -метилглутарил-CoA
 hnRNA (гяРНК) — гетерогенная ядерная РНК
 HPLC (ВЭЖХ) — высокоэффективная жидкостная
 хроматография
 HRE — элемент гормонального ответа (гормон-чув-
 ствительный элемент)
 Hsp — белок теплового шока
 HTH — спираль-поворот-спираль
 Hup — гидроксипролин
 I — инозин
 IF — фактор инициации
 Ig (ИГ) — иммуноглобулин (антитело)
 IgG — иммуноглобулин G
 Ile — изолейцин
 IMP, IDP, ITP — инозин-5'-моно-, -ди-, -трифосфат
 IP₃ — инозит-1,4,5-трифосфат
 IR (ИК) — инфракрасный
 IRP — железо-регуляторный белок
 IRS-1, IRS-2 — субстрат-1 и субстрат-2 инсулинового
 рецептора
 IS (IS-элемент) — инсерционная последовательность
 J (Дж) — джоуль
 JAK — Янус-киназа
 K_a — константа диссоциации кислоты
 K_d — константа диссоциации

K_D — константа диффузии
 K_{eq} — константа равновесия
 K'_{eq} — константа равновесия в стандартных условиях
 K_I — константа ингибирования
 K_M — константа Михаэлиса
 k — константа скорости
 k_{cat} — число оборотов
 kb — тысячи [пар] нуклеотидов, килобазы
 kbp (т. п. н.) — тысячи пар нуклеотидов
 α -KG — α -кетоглутарат
 lac — лактоза
 λ — длина волны
 LDH (ЛДГ) — лактатдегидрогеназа
 LDL (ЛПНП) — липопротеин низкой плотности
 Leu — лейцин
 LH (ЛГ) — лютеинизирующий гормон
 LHC — светопоглощающий комплекс
 Lk — порядок зацепления
 $\ln$ — логарифм по основанию e
 $\lg$ — логарифм по основанию 10
 LT — лейкотриен
 LTR — длинный концевой повтор
 Lys — лизин
 M_r — относительная молекулярная масса
 Man — D-манноза
 $MAPK$ — митоген-активируемые протеинкиназы
 Mb, MbO_2 — миоглобин, оксимиоглобин, окисленный миоглобин
 $MCAD$ — ацил-CoA-дегидрогеназа средних цепей
 MCM — белки поддержания минтхромосом
 $mDNA$ (мДНК) — митохондриальная ДНК
 Met — метионин
 MFP — мультифункциональный белок (в окислении жирных кислот)
 $miRNA$ — микроРНК
 $MODY$ — диабет взрослого типа у молодых
 $mRNA$ (мРНК) — матричная РНК
 MS (МС) — масс-спектропия
 MSH (МСГ) — меланоцит-стимулирующий гормон
 μ — электрофоретическая подвижность
 Mur — мурамовая кислота
 $Mur2Ac$ — N-ацетилмурамовая кислота (NAM)
 $NAD^+, NADH$ — никотинамидадениндинуклеотид и его восстановленная форма
 $NADP^+, NADPH$ — никотинамидадениндинуклеотид-фосфат и его восстановленная форма
 NAG — N-ацетилглюкозамин (GlcNAc)
 NAM — N-ацетилмурамовая кислота (Mur2Ac)
 $ncRNA$ (нкРНК) — некодирующая РНК
 $Neu5Ac$ — N-ацетилнейраминная кислота (сиаловая кислота)
 $NMN^+, NMNH$ — никотинамидмононуклеотид и его восстановленная форма
 NMP, NDP, NTP — нуклеозидмоно-, -ди-, -трифосфат

NMR (ЯМР) — ядерный магнитный резонанс
 NO — оксид азота
 OAA — оксалоацетат
 ORC — комплекс распознавания точки инициации репликации
 ORF — открытая рамка считывания
 P — давление
 P_i — неорганический фосфат
 PAB или $PABA$ (ПАБК) — n -аминобензоат ($nara$ -аминобензойная кислота)
 $PAGE$ — электрофорез в полиакриламидном геле
 PC — пластоцианин; фосфатидилхолин
 PCR (ПЦР) — полимеразная цепная реакция
 PDB — Protein Data Bank (база данных белков)
 PDE — фосфодиэстераза циклических нуклеотидов
 PDH (ПД) — пируватдегидрогеназа
 PE — фосфатидилэтаноламин
 PEP (ФЕП) — фосфоенолпируват
 $PEPCK$ — фосфоенолпируваткарбоксикиназа
 PET (ПЭТ) — позитронная эмиссионная томография
 PFK (ФФК) — фосфофруктокиназа
 PG (ПГ) — простагландин
 $2PGA$ (2ФГ) — 2-фосфоглицерат
 $3PGA$ (3ФГ) — 3-фосфоглицерат
 $pH = \lg(1/[H^+])$
 Phe — фенилаланин
 PI — фосфатидилинозит
 pI — изоэлектрическая точка
 PIP_2 — фосфатидилинозит-4,5-бисфосфат
 PK (ПК) — протеинкиназа; пируваткиназа
 $pK = \lg(1/K)$
 PKA — cAMP-зависимая протеинкиназа (протеинкиназа A)
 PKB — протеинкиназа B (Akt)
 PKC — Ca^{2+} /кальмодулин-зависимая протеинкиназа (протеинкиназа C)
 PKG — cGMP-зависимая протеинкиназа (протеинкиназа G)
 PKU (ФКУ) — фенилкетонурия
 PLC — фосфолипаза C
 PLP — пиридоксаль-5-фосфат
 pO_2 — парциальное давление кислорода
 Pol — полимеразы (ДНК или РНК)
 PP_i — неорганический пирофосфат
 $PP1$ (ФПФаза 1) — фосфопроteinфосфатаза 1
 $PPAR$ — рецептор, активируемый пролифератором пероксисомы
 PQ (ПХ) — пластохинон
 pRb — белок ретинобластомы
 Pro — пролин
 $PRPP$ — 5-фосфорибозил-1-пирофосфат
 PS (ФС) — фосфатидилсерин; фотосистема
 $\Delta\Psi$ — трансмембранный электрический потенциал
 PTB — фосфотирозинное связывание

PUFA (ПНЖК) — полиненасыщенная жирная кислота

Q — отношение действующих масс

Q, QH_2 — убихинон, восстановленный убихинон

Rb — ген ретинобластомы (ген опухолевого супрессора)

RC — фотореакционный центр

RER (ШЭР) — шероховатый эндоплазматический ретикулум

RF — релизинг-фактор; репликативная форма

RFLP — полиморфизмы длины фрагментов рестрикции

RGS — регулятор сигнала G-белка

RIA (РИА) — радиоиммунный анализ

Rib — D-рибоза

RLK — рецептороподобная протеинкиназа

RNA (РНК) — рибонуклеиновая кислота

RNAi (РНКи) — интерференция РНК

RNase (РНКазы) — рибонуклеаза

ROS — активные формы кислорода (АФК); наружный сегмент палочки (сетчатка)

rRNA (рРНК) — рибосомная РНК

RSV — вирус саркомы Рауса

RTK — рецептор тирозинкиназы (рецептор Tyr-киназы)

ΔS — изменение энтропии

SAM — S-аденозилметионин (adoMet)

SDS — додецилсульфат натрия

SELEX — систематическая эволюция лигандов путем экспоненциального обогащения

SER (ГЭР) — гладкий эндоплазматический ретикулум

Ser — серин

SERCA — кальциевая АТРаза саркоплазматического и эндоплазматического ретикулов

SMC — белки, поддерживающие структуру хромосом

SNARE — растворимый рецептор связывания

N-этилмаленимид-чувствительного фактора

snoRNA (мякРНК) — малая ядрышковая РНК

STP — однонуклеотидный полиморфизм

snRNA (мяРНК) — малая ядерная РНК

snRNP (мяРНП) — малый ядерный рибонуклеопротеин

SREBP — белки, взаимодействующие со стерол-регулируемым элементом

sRNA (маРНК) — малая РНК

SRP — сигнал-распознающая частица

STAT — преобразователь сигнала и активатор транскрипции

STP — стандартные температура и давление

STR — короткий tandemный повтор

stRNA (мвРНК) — малая временная РНК

STS — последовательно-меченные сайты

SUR — рецептор сульфанилмочевины

T — тимин, тимидин или тимидилат

T — абсолютная температура

T2DM (ИНЗСД) — сахарный диабет 2-го типа (инсулиннезависимый)

TBP — TATA-связывающий белок

TCA (ТКК) — трикарбоновая кислота

TFP — трифункциональный белок

THF (ТГФ) — тетрагидрофолат (H_4 -фолат)

Thr — треонин

TLC (ТХХ) — тонкослойная хроматография

TMP, TDP, TTP — тимидин-5'-моно-, -ди-, -трифосфат

TMV (ВТМ) — вирус табачной мозаики

TPI — тризофосфатизомеразы

TPP — тиаминпирофосфат

tRNA (тРНК) — транспортная РНК

Trp — триптофан

TX — тромбоксан

Tyr — тирозин

U — урацил, уридин или уридилат

UAS — активирующая последовательность

UCP — разобщающий белок

UDP-Gal — уридиндифосфатгалактоза (UDP-галактоза)

UDP-Glc — уридиндифосфатглюкоза (UDP-глюкоза)

UMP, UDP, UTP — уридин-5'-моно-, -ди-, -трифосфат

UQ — убихинон (кофермент Q; CoQ)

UV (УФ) — ультрафиолет

V_m — трансмембранный электрический потенциал (мембранный потенциал)

V_{max} — максимальная скорость

V_0 — начальная скорость

Val — валин

VDR — рецептор витамина D

VEGF — фактор роста эндотелия сосудов

VLDL (ЛПОНП) — липопротеин очень низкой плотности

WAT — белая жировая ткань

YAC — искусственная дрожжевая хромосома

Z — суммарный заряд

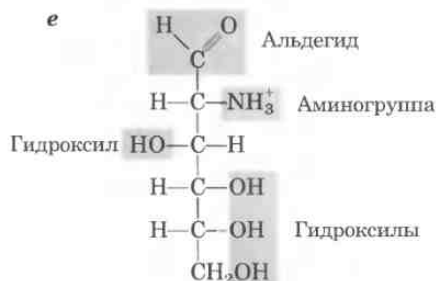
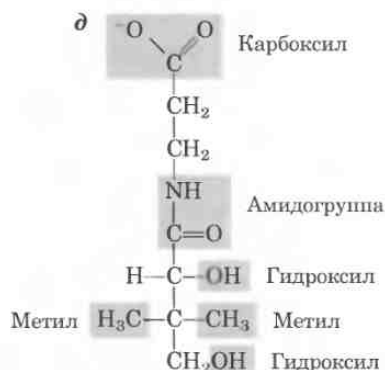
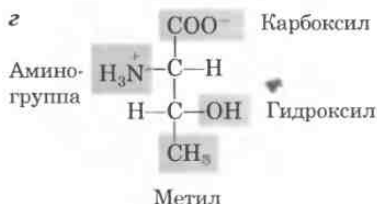
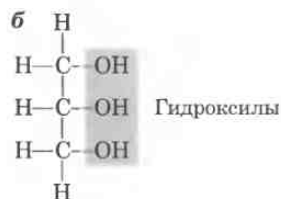
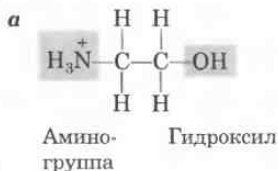
Краткие решения задач и ответы на вопросы

Решения алгебраических задач представлены в численном виде, причем число значащих цифр ответа обосновано.

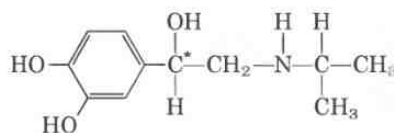
Глава 1

- а) Диаметр увеличенной клетки составляет 500 мкм;
б) $2,7 \cdot 10^{12}$ молекул актина; в) 36 000 митохондрий;
г) $3,9 \cdot 10^{10}$ молекул глюкозы; д) 50 молекул глюкозы на молекулу гексокиназы.
- а) $1 \cdot 10^{-12}$ г = 1 пг; б) 10%; в) 5%.
- а) 1,6 мкм; в 800 раз длиннее клетки: ДНК очень плотно упакована; б) 4000 белков.
- а) Скорость метаболизма ограничена диффузией, которая в свою очередь определяется площадью поверхности; б) 12 мкм^{-1} для бактерии, $0,04 \text{ мкм}^{-1}$ для амебы; у бактерии отношение площади поверхности к объему в 300 раз выше.
- $2 \cdot 10^6$ с (около 23 суток).
- Молекулы витамина из двух источников идентичны, и организм не может отличить природную молекулу от синтетической. От источника фермента зависит только наличие в нем тех или иных примесей.

7.



8. Два энантиомера по-разному взаимодействуют с хиральным биологическим «рецептором» (белком).



9. а) Только в аминокислотах есть аминогруппы, поэтому разделение может быть основано на заряде или реакционной способности этих групп. Жирные кислоты хуже растворяются в воде, чем аминокислоты. Кроме того, эти два типа молекул различаются по размеру и по форме. Разделение может быть основано на различиях этих параметров. б) Молекула глюкозы по размеру меньше молекулы нуклеотида, так что разделение может быть основано на разнице размеров молекул. Кроме того, азотистое основание и фосфатная группа обеспечивают нуклеотидам такие свойства (растворимость, заряд), которые можно использовать для их отделения от глюкозы.
10. Вряд ли кремний мог бы стать основой жизни, особенно в кислородной атмосфере, окружающей нашу Землю. Длинные цепи, состоящие из атомов кремния, синтезировать достаточно сложно, так что вряд

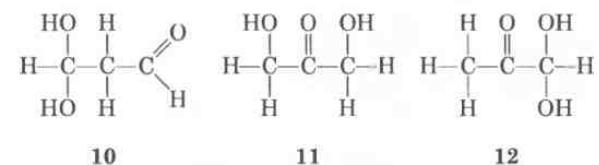
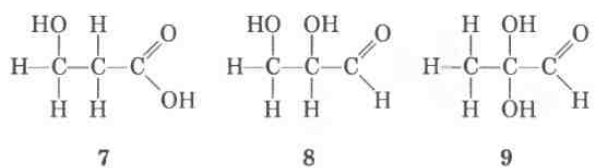
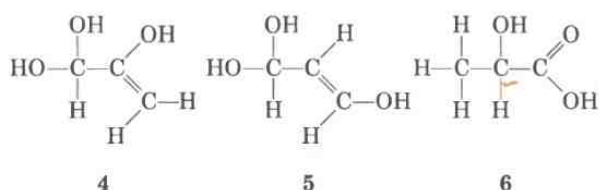
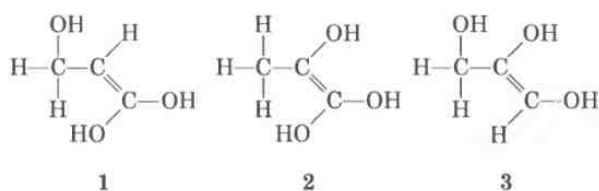
ли удалось бы получить полимерные макромолекулы, необходимые для реализации сложных функций. Кислород разрушает связи между атомами кремния, а образующиеся связи между кремнием и кислородом чрезвычайно прочные, что затрудняет разрыв и образование химических связей, что все время происходит при процессах жизнедеятельности.

11. Физиологической активностью обладает лишь один энантиомер. Препарат декседрин состоит именно из этого энантиомера, а бензедрин представляет собой рацемическую смесь.

12. а) Три фосфорильные группы, α -D-рибоза, гуанин; б) холин, фосфорная кислота, глицерин, олеиновая кислота, пальмитиновая кислота; в) тирозин, два глицина, фенилаланин, метионин.

13. а) CH_2O , $\text{C}_3\text{H}_6\text{O}_3$.

б)

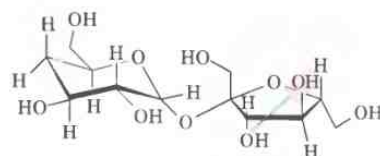


в) X содержит хиральный центр, так что можно исключить все структуры, кроме 6 и 8; г) X содержит кислую функциональную группу, и это позволяет исключить структуру 8; структура 6 соответствует всем условиям; д) структура 6; различить два возможных энантиомера мы не можем.

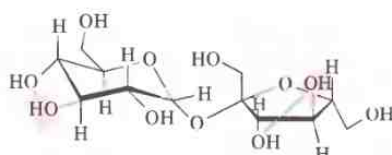
14. а) Большее отрицательное значение ΔG° соответствует большей величине K_{eq} для реакции связывания, так что равновесие сдвигается в сторону

продуктов реакции и более сильного связывания и, следовательно, более сладкого вкуса и большего значения относительной сладости. б) Определение сладости на животных занимает слишком много времени; компьютерные программы для предсказания сладости веществ, возможно, не всегда отличаются высокой точностью, но позволяют химикам гораздо быстрее сконструировать эффективные подсластители. Затем такие молекулы-кандидаты должны быть опробованы на животных или на людях. в) В отрезке длиной от 0,25 до 0,4 нм укладывается от 1,5 до 2,5 длин «типичных» одинарных связей. Используем изображенный ниже шаблон в качестве линейки: любой атом, попадающий в розовый прямоугольник, находится на расстоянии от 0,25 до 0,4 нм от начала линейки.

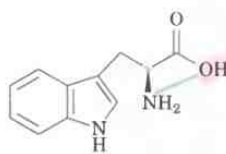
В данных молекулах содержится множество возможных групп АН-В; ниже выделены некоторые из них.



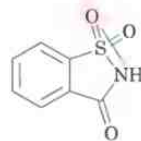
Дезоксисахароза



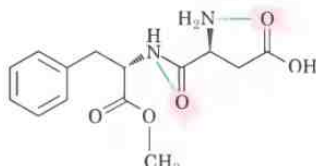
Сахароза



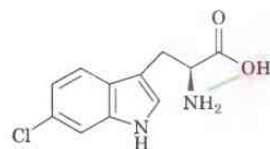
D-Триптофан



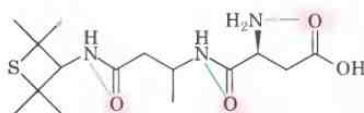
Сахарин



Аспартам



6-Хлор-D-триптофан



Алитам



г) Во-первых, в каждой из приведенных молекул есть несколько групп АН-В, так что трудно определить, какие из них играют определяющую роль. Во-вторых, группа АН-В очень простая и часто встречается во многих несладких молекулах. д) Сахароза и дезоксисахароза. Дезоксисахароза не имеет одной из групп АН-В, имеющихся в молекуле сахарозы, и обладает чуть более низким значением относительной сладости, как и следует ожидать, если эти группы АН-В определяют сладость вещества. е) Таких примеров много, вот некоторые из них: (1) D-триптофан и 6-хлор-D-триптофан имеют одну и ту же группу АН-В, но значения относительной сладости для этих молекул очень сильно различаются. (2) Аспартам и неотам также имеют одинаковые группы АН-В, но сильно различаются по относительной сладости. (3) Неотам имеет две группы АН-В, а алитам – три, но неотам более чем в 5 раз слаще. (4) Бром обладает менее выраженной электроотрицательностью, чем кислород, и, следовательно, должен бы ослаблять активность групп АН-В, однако тетрабромсахароза гораздо слаще сахарозы. ж) При достаточной «подгонке» параметров модели к выборке данных любая модель сможет более или менее адекватно описывать эту выборку. Поскольку исследователи хотели создать модель, способную предсказать ΔG° для молекул, которые не были протестированы *in vivo*, они должны были показать, что модель хорошо описывает молекулы, на которых ее не «тренировали». Степень отклонения

результатов моделирования от истинных значений для тестируемых молекул показывает, насколько хороша предложенная модель. з) Относительная сладость связана с K_{eq} , которая в свою очередь экспоненциальным образом зависит от ΔG° . Поэтому увеличение значения ΔG° на постоянную соответствует умножению относительной сладости на постоянную. На основании представленных значений можно сказать, что изменение ΔG° на 1,3 ккал/моль соответствует 10-кратному изменению относительной сладости.

Глава 2

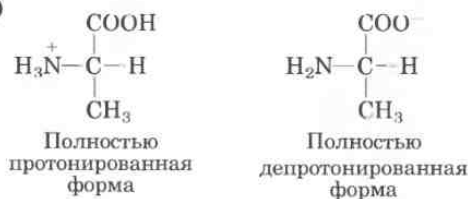
1. Этиловый спирт — полярная молекула, а молекула этан нет. Гидроксильная группа этилового спирта может участвовать в образовании водородных связей с молекулами воды.
2. а) 4,76; б) 9,19; в) 4,0; г) 4,82.
3. а) $1,51 \cdot 10^{-4}$ М; б) $3,01 \cdot 10^{-7}$ М; в) $7,76 \cdot 10^{-12}$ М.
4. 1,1.
5. а) $\text{HCl} \rightleftharpoons \text{H}^+$; б) 3,3; в) $\text{NaOH} \rightleftharpoons \text{Na}^+ + \text{OH}^-$; г) 9,8.
6. 1,1.
7. $1,7 \cdot 10^{-9}$ моль ацетилхолина.
8. 0,1 М HCl.
9. 3,3 мл.
10. а) RCOO^- ; б) RNH_2 ; в) H_2PO_4^- ; г) HCO_3^- .
11. а) 5,06; б) 4,28; в) 5,46; г) 4,76; д) 3,76.
12. а) 0,1 М HCl; б) 0,1 М NaOH; в) 0,1 М NaOH.
13. Вариант (г). Бикарбонат — слабое основание и тигрует –ОН-группы, превращая их в $-\text{O}^-$, в результате чего соединение становится более полярным и лучше растворяется в воде.
14. Из желудка. Нейтральная форма аспирина, присутствующая при более низких значениях pH, является менее полярной и легче проникает через мембраны.
15. 9.
16. 7,4.
17. а) при pH 8,6–10,6; б) 4/5; в) 10 мл; г) $\text{pH} = \text{pK}_a - 2$.
18. 1,4.
19. $\text{NaH}_2\text{PO}_4 \cdot \text{H}_2\text{O}$ – 5,8 г/л. Na_2HPO_4 – 8,2 г/л.
20. $[\text{A}^-]/[\text{HA}] = 0,10$.
21. Смешать 150 мл 0,10 М раствора ацетата натрия и 850 мл 0,10 М уксусной кислоты.
22. Раствор уксусной кислоты; pK_a уксусной кислоты ближе всего к заданному pH.
23. а) 4,6; б) 0,1 единицы pH; в) 4 единицы pH
24. 4,3.

25. 0,13 М ацетат и 0,07 М уксусная кислота.

26. 1,7.

27. 7.

28. а)



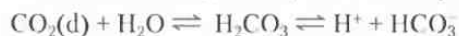
б) Полностью протонирован; в) цвиттерион;

г) цвиттер-ион; д) полностью депротонирован

29. а) рН крови контролируется буферной системой диоксид углерод/бикарбонат: $\text{CO}_2 + \text{H}_2\text{O} \rightleftharpoons \text{H}^+ + \text{HCO}_3^-$. При гиповентиляции легких $[\text{CO}_2]$ артериальной крови повышается, что приводит к повышению $[\text{H}^+]$ и снижению рН. б) При гипервентиляции легких $[\text{CO}_2]$ артериальной крови понижается, что приводит к снижению $[\text{H}^+]$ и повышению рН $\geq 7,4$ (выше нормы). в) Лактат — кислота средней силы; при физиологических условиях он полностью диссоциирует, снижая рН крови и жидкостей мышечной ткани. Гипервентиляция удаляет H^+ , что сопровождается повышением рН крови и тканей. т. е. противодействует эффекту лактата.

30. 7,4.

31. Растворение дополнительного количества CO_2 приводит к повышению содержания H^+ в крови и внеклеточных жидкостях, что снижает рН:



32. а) Сначала использовать вещество в форме ПАВ, что позволит перевести разлитое масло в эмульсию, собрать эмульсию, а затем переключить вещество в форму «не-ПАВ». б) Равновесие реакции сильно смещено вправо. Более сильная кислота H_2CO_3 (более низкое значение pK_a) отдает протон сопряженному основанию более слабой кислоты — амидина (более высокое значение pK_a). в) Активность ПАВ зависит от гидрофильности функциональной группы в головке: чем сильнее выражены гидрофильные свойства головки, тем более активные свойства ПАВ. Амидиний значительно более гидрофильное соединение, чем амидин, поэтому он является более мощным ПАВ. г) Точка А: амидиний; CO_2 имел достаточно времени для взаимодействия с амидином, чтобы перевести его в форму амидиния. Точка В: амидин; Аг удалил CO_2 из раствора, оставив ПАВ в форме амидина. д) Проводимость возрастает по мере того, как незаряженный амидин взаимодействует с CO_2 и превращается в заряженный амидиний. е) Проводимость падает по мере того, как Аг удаляет из системы CO_2 , сдвигая

равновесие в сторону образования незаряженного амидина. ж) Следовало бы обработать переключаемый ПАВ CO_2 для его перевода в форму амидиния и использовать для эмульгирования масла. Затем обработать эмульсию Аг, чтобы удалить CO_2 и вернуться к неактивному амидину. Масло отделится от воды, и его можно будет собрать.

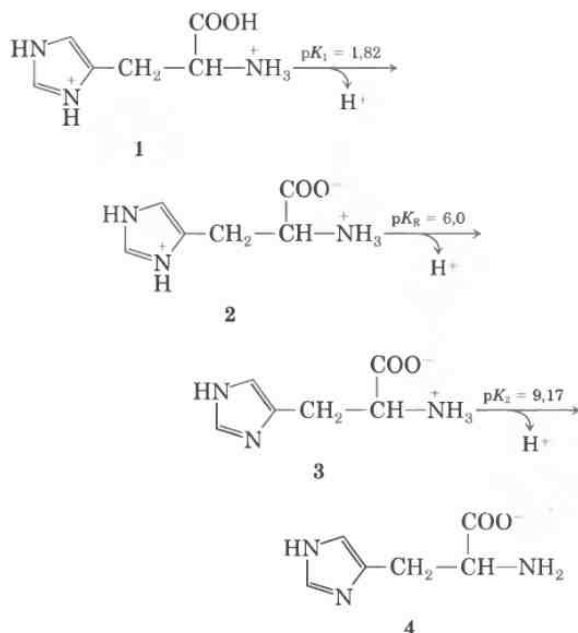
Глава 3

1. L; следует определить абсолютную конфигурацию заместителей у α -атома углерода и сравнить с молекулами D- и L-глицеральдегида.

2. а) I; б) II; в) IV; г) II; д) IV; е) II и IV; ж) III; з) III; и) V; к) III; л) V; м) II; н) III; о) V; п) I, III и V.

3. а) $\text{pI} > \text{pK}_a$ для α -карбоксильной группы и $\text{pI} < \text{pK}_a$ для α -аминогруппы, так что обе группы заряжены (ионизованы). б) Одна на $2,19 \cdot 10^7$; pI аланина составляет 6,01. Из таблицы 3-1 и уравнения Хендерсона–Хассельбаха следует, что незаряженными остается одна карбоксильная группа из 4680 и одна аминогруппа из 4680. Доля молекул аланина, в которых не заряжены обе группы, равна обратной величине произведения этих двух чисел.

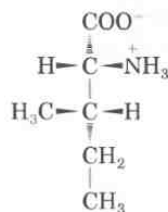
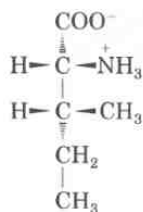
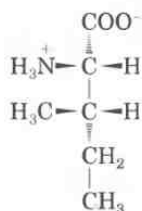
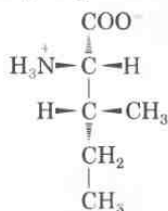
4. а)–в)



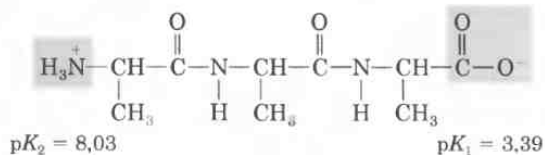
pH	Структура	Суммарный заряд	Двигается к
1	1	+2	катоде
4	2	+1	катоде
8	3	0	не движется
12	4	-1	аноде

5. а) Asp; б) Met; в) Glu; г) Gly; д) Ser.

6. а) 2; б) 4; в)



7. а) Структура при pH 7:



б) Электростатическое взаимодействие между карбоксилатным анионом и протонированной аминогруппой цвиттер-иона аланина способствует ионизации карбоксильной группы. Это электростатическое взаимодействие ослабевает по мере удлинения последовательности поли(Ala), что выражается в увеличении pK_1 . в) Ионизация протонированной аминогруппы разрушает электростатические взаимодействия, описанные в пункте (б). При увеличении расстояния между заряженными группами облегчается удаление протона от аминогруппы в молекуле поли(Ala), и pK_2 уменьшается. Внутримолекулярное влияние амидных (пептидных) связей проявляется в уменьшении pK_a по сравнению с pK_a алкилзамещенных аминов.

8. 75 000.

9. а) 32 000. При образовании пептидной связи выделяется молекула воды, так что молекулярные массы остатка триптофана и свободного триптофана не равны; б) 2.

10. Белок состоит из четырех субъединиц с молекулярными массами 160, 90, 90 и 60 кДа. Субъединицы с молекулярной массой 90 кДа (возможно, они идентичные) связаны одной или несколькими дисульфидными связями.

11. а) При pH 3 — +2, при pH 8 — 0, при pH 11 — -1; б) $pI = 7,8$.

12. $pI \sim 1$; карбоксилатные группы; Asp и Glu.

13. Lys, His и Arg; отрицательно заряженные фосфатные группы молекул ДНК взаимодействуют с положительно заряженными боковыми группами гистонов.

14. а) (Glu)₂₀; б) (Lys-Ala)₃; в) (Asn-Ser-His)₅; г) (Asn-Ser-His)₅.

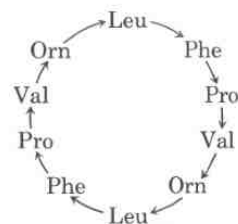
15. а) Удельная активность фермента: 200 ед./мг после стадии 1, 2 600 ед./мг после стадии 2, 3 250 ед./мг после стадии 3, 4 000 ед./мг после стадии 4, 15 000 ед./мг после стадии 5, 15 000 ед./мг после стадии 6; б) стадия 4; в) стадия 3; г) Да. Поскольку удельная активность на стадии 6 не увеличилась; провести электрофорез в полиакриламидном геле в присутствии SDS.

16. а) [NaCl] = 0,5 мМ; б) [NaCl] = 0,05 мМ.

17. Первым сходит пептид С, вторым пептид В, а третьим пептид А.

18. Tyr-Gly-Gly-Phe-Leu.

19.



Стрелки указывают пептидную связь —CO → NH—.

20. 88%, 97%. Процент (x) правильных аминокислотных остатков, высвобожденных в цикле n , составляет x_n/x . Все остатки, высвобожденные в первом цикле, правильные, даже если эффективность расщепления неидеальная.

21. а) Y (1), F (7) и R (9); б) положения 4 и 9; K (Lys) чаще встречается в положении 4, R (Arg) всегда присутствует в положении 9; в) положения 5 и 10; чаще всего в обоих положениях встречается E (Glu); г) положение 2; S (Ser)

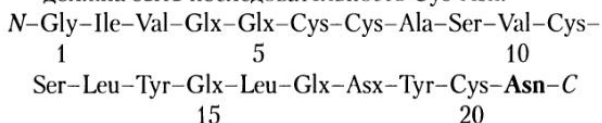
22. а) Белок, который предстоит выделить (цитратсинтаза, ЦС), составляет довольно малую фракцию всего клеточного белка. Проведение выделения на холоду тормозит процесс деградации белка, а сахара обеспечивают изотоническую среду, в которой при гомогенизации лучше сохраняется целостность органелл. б) На этой стадии клеточные органеллы разделяются в зависимости от их размера. в) Первое добавление сульфата аммония позволяет удалить из гомогената некоторые балластные белки. При добавлении дополнительного количества сульфата аммония ЦС тоже выпадает в осадок. г) Для перевода ЦС в раствор необходимо

димо удалить сульфат аммония, но сделать это нужно при таких значениях pH и ионной силы, чтобы сохранить нативную конформацию белка. **д)** Молекулы ЦС больше размера пор хроматографического геля. Белок можно идентифицировать по поглощению света с длиной волны 280 нм, что характерно для остатков Туг и Тгр. **е)** ЦС несет на себе положительный заряд и поэтому связывается с отрицательно заряженными группами катионообменника. Сначала с колонки смываются нейтральные и отрицательно заряженные белки, а затем ЦС смывается с помощью раствора с более высоким значением pH, который изменяет заряд на молекуле ЦС. **ж)** разные белки могут иметь одно и то же значение *pI*. Но SDS-электрофорез подтверждает, что в данной фракции содержится единственный белок. Полностью удалить SDS из белкового препарата трудно, и в его присутствии нарушаются кислотно-основные свойства белка, включая значение *pI*.

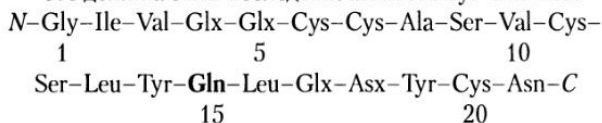
23. а) В любой линейной полипептидной цепи есть лишь два типа свободных аминогрупп: единственная α -аминогруппа на N-конце цепи и ϵ -аминогруппы в боковой цепи остатков лизина. Эти аминогруппы реагируют с FDNB с образованием DNP-производных аминокислот. Инсулин образует два разных α -амино-DNP-производных, что говорит о существовании **двух** N-концов и, следовательно, двух полипептидных цепей, одна из которых имеет на N-конце остаток Gly, а другая — остаток Phe. Поскольку лизин образует ϵ -DNP-лизин, он не является N-концевым остатком. **б)** Да. Цепь А имеет на N-конце остаток Gly; цепь В имеет на N-конце остаток Phe и неконцевой (в позиции 29) остаток Lys. **в)** Phe-Val-Asp-Glu-. Пептид В1 имеет на N-конце остаток Phe. В пептиде В2 также содержится остаток Val, но поскольку DNP-Val не образуется, Val не является N-концевым остатком, а должен находиться со стороны С-конца от Phe. Следовательно, В2 имеет последовательность DNP-Phe-Val. Аналогичным образом, В3 имеет последовательность DNP-Phe-Val-Asp, и цепь В начинается последовательностью Phe-Val-Asp-Glu-. **г)** Нет. Известно, что В-цепь инсулина начинается с последовательности Phe-Val-Asn-Gln-. При определении аминокислотной последовательности по методу Сенгера Asn и Glu превращаются в Asp и Glu соответственно по той причине, что на стадии гидролиза (стадия 7) происходит гидролиз амидных связей в Asn и Gln (как и пептидных связей), в результате чего образуются Asp и Glu. На этой стадии анализа Сенгер с соавторами не могли отличить Asp от Asn, а Glu от Gln. **д)** Она в точности совпадает с последовательностью, представленной

на рис. 3-24. Для каждого представленного в таблице пептида приведена информация, позволяющая определить, в каком случае Asx является аспарагином, а в каком аспарагиновой кислотой, а Glx — глутамином или глутаминовой кислотой.

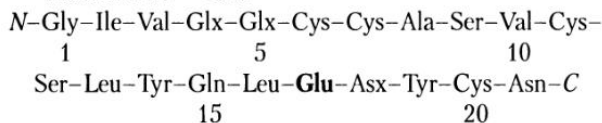
Act1: остатки 20–21. Это единственная последовательность Cys-Asx в цепи А; в этом пептиде содержится примерно одна амидная группа, так что это должна быть последовательность Cys-Asn:



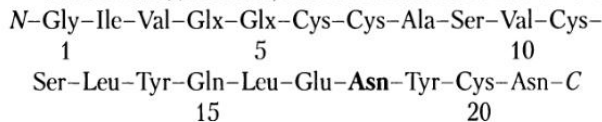
Ap15: остатки 14–15–16. Это единственный участок с последовательностью Tyr-Glx-Leu в цепи А. В нем содержится примерно одна амидная группа, так что это должна быть последовательность Tyr-Gln-Leu:



Ap14: остатки 14–15–16–17. Здесь содержится примерно одна амидная группа, и нам уже известно, что в положении 15 находится Gln, так что в положении 17 — Glu:

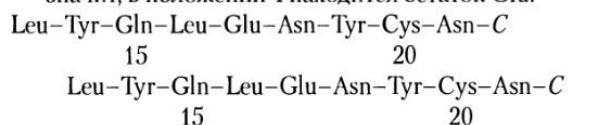


Ap3: остатки 18–19–20–21. Здесь содержится примерно две амидные группы. Мы знаем, что в положении 21 находится Asn, так что в остаток 18 также Asn:

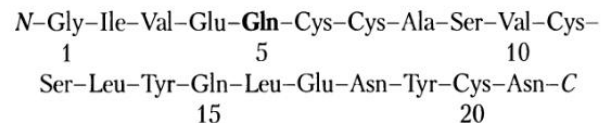


Ap1: остатки 17–18–19–20–21. В положениях 18 и 21 находится Asn.

Ap5pa1: остатки 1–2–3–4. Здесь нет амидных групп, значит, в положении 4 находится остаток Glu:



Ap5: остатки от 1 до 13. Здесь содержится примерно одна амидная группа. Нам уже известно, что в положении 4 находится Glu, так что в положении 5 должен стоять Gln:



Глава 4

1. а) Более короткие связи имеют большую кратность (по сравнению с одинарными связями) и прочность. Пептидная связь C–N прочнее одинарной связи и занимает промежуточное положение между простой и двойной связью. б) Вращение вокруг пептидной связи при физиологических условиях затруднено, поскольку отчасти она имеет характер двойной связи.
2. а) Основной структурной единицей шерстяного волокна (α -кератина) является виток α -спирали, повторяющийся через каждые 5,4 Å; длина витка спирали составляет около 5,2 Å. Нагревание и растягивание волокна приводит к образованию растянутой β -конформации, в которой расстояние между соседними R-группами составляет ~7,0 Å. Когда полимер возвращается в исходную α -спиральную конформацию, волокно вновь укорачивается. б) Под действием влаги и тепла шерстяное волокно возвращается из β -конформации в нативную α -спиральную конформацию и происходит опять укорачивание. Структура белка шелка – β -лист, где небольшие боковые цепи аминокислотных остатков упакованы достаточно плотно, и такая структура оказывается прочнее структуры шерсти.
3. ~ 42 пептидные связи в секунду
4. При pH > 6 карбоксильные группы поли(Glu) депротонированы. Взаимное отталкивание между отрицательно заряженными карбоксильными группами приводит к разворачиванию белковой цепи. Аналогичным образом, при pH 7,0 протонированы аминогруппы поли(Lys). Взаимное отталкивание между этими положительно заряженными группами тоже приводит к разворачиванию цепи.
5. а) Дисульфидные мостики образованы ковалентными связями, и поэтому они гораздо прочнее нековалентных взаимодействий, стабилизирующих большинство белковых структур. Дисульфидные мостики образуют перекрестные сшивки между полипептидными цепями, повышая их жесткость и механическую прочность. б) Наличие дисульфидных связей между остатками цистеина предотвращает полное разворачивание белка.
6. а) Изгибы с наибольшей вероятностью возникают у остатков 7 и 19; наличие остатков Pro в *цис*-конфигурации способствует возникновению поворотов. б) Остатки Cys в положениях 13 и 24 могут образовывать дисульфидные связи. в) На внешней поверхности находятся полярные и заряженные остатки (Asp, Gln, Lys), внутри глобулы – неполярные и алифатические остатки (Ala, Ile). Хотя Thr и является полярной аминокислотой, его индекс гидропатии близок к нулю, так что он может находиться как на поверхности глобулы, так и внутри.
7. 30 аминокислотных остатков; 0,87.
8. Миоглобин – это и то, и другое, и третье. Мотив «глобиновой укладки» встречается во всех глобинах. Полипептидная цепь образует один-единственный домен в данном белке.
10. а) Число молей DNP-валина, образующееся из 1 моль белка, равно числу N-концевых остатков и, следовательно, числу полипептидных цепей. б) 4; в) При проведении SDS-электрофореза различные полипептидные цепи, возможно, давали бы отдельные полосы.
11. Пептид (а), поскольку в нем больше аминокислотных остатков, способствующих образованию α -спиральной структуры (см. Таблицу 4-1).
12. а) По-видимому, остатки ароматических аминокислот играют важную роль в стабилизации амилоидных волокон. Поэтому молекулы с ароматическими группами могли бы ингибировать образование амилоида, препятствуя взаимодействию ароматических боковых цепей аминокислотных остатков. б) При диабете II типа в поджелудочной железе образуются амилоидные волокна, как и в головном мозге при болезни Альцгеймера. Хотя амилоидные волокна при этих двух заболеваниях состоят из разных белков, основная структура амилоида по сути одна и та же и стабилизирована одинаковым образом. Поэтому лекарства, способные разрушать эту структуру, возможно, эффективны в обоих случаях.
13. а) Транскрипционный фактор NF κ B, также называемый трансформирующим фактором RelA. б) Нет. Результаты похожи, но списки родственных белков разные. в) Белок состоит из двух субъединиц. Существует множество вариантов этих субъединиц, но лучше других охарактеризованы варианты с молекулярной массой 50, 52 или 65 кДа. Они образуют разнообразные гомо- или гетеродимеры. Структуру некоторых из них можно найти в базе данных PDB. г) Транскрипционный фактор NF κ B представляет собой димерный белок, который связывается со специфической последовательностью ДНК, усиливая транскрипцию соседних генов. Среди этих генов, в частности, ген легкой κ -цепи иммуноглобулина, в связи с чем транскрипционный фактор и получил свое название.
14. а) Аба является подходящей заменой, поскольку Аба и Cys имеют боковые цепи примерно одинакового размера и одинаковую гидрофобность. Однако Аба не может образовывать дисульфидные связи и поэтому не будет адекватной заменой в том случае, когда такие связи требуются. б) Между синтезированным белком и ВИЧ-протеазой, образующейся

человеческих клетках, существует несколько важных различий — любое из них может объяснить отсутствие активности у синтетического белка.

(1) Хотя Cys и Aba похожи по размеру и гидрофобности, этого может быть недостаточно для формирования правильной укладки белка. (2) В фолдинге ВИЧ-протеазы определенную роль могут играть дисульфидные связи. (3) Фолдинг многих белков происходит еще в процессе синтеза на рибосомах, но данный белок складывается только после завершения синтеза. (4) Белки, синтезируемые на рибосомах, могут взаимодействовать с рибосомами в процессе фолдинга, но для данного белка это невозможно. (5) Состав цитозоля сложнее состава буфера, который использовался в данном исследовании, а для фолдинга некоторых белков могут требоваться специфические и неизвестные пока белки. (6) Для правильного сворачивания некоторым белкам требуются шапероны, которых в буфере нет. (7) В клетках ВИЧ-протеаза синтезируется как часть более длинной цепи, которая затем подвергается протеолитическому процессингу, а белок в данном исследовании был синтезирован как единая молекула. **в)** Поскольку фермент оказался функциональным даже при замене Cys на Aba, видимо, дисульфидные связи не играют важной роли в формировании ВИЧ-протеазы. **г)** *Модель 1:* укладка, как в L-протеазе. *Аргумент «за»:* ковалентная структура белков одинаковая (за исключением хиральности), поэтому и укладка будет такой же. *Аргумент «против»:* хиральность — важное свойство, трехмерная структура играет ключевую роль в биологической активности молекул. Поэтому синтетический фермент не может укладываться таким же образом, как L-протеаза. *Модель 2:* образуется зеркальное отражение L-протеазы. *Аргумент «за»:* поскольку отдельные элементы синтетического и природного белков являются зеркальными отражениями друг друга, целая молекула синтетического белка тоже примет структуру зеркального отражения природного белка. *Аргумент «против»:* фолдинг белка обеспечивают очень сложные взаимодействия, так что синтетический белок, вероятно, примет иную структуру. *Модель 3:* иная укладка. *Аргумент «за»:* фолдинг белка обеспечивают очень сложные взаимодействия, так что синтетический белок, вероятно, примет какую-то иную структуру. *Аргумент «против»:* поскольку отдельные структуры синтетического и природного белков являются зеркальными отражениями друг друга, целая молекула синтетического белка тоже примет структуру зеркального отражения природного белка. **д)** *Модель 1:* Фермент оказался активным по отно-

шению к энантиомеру природного субстрата и ингибируется энантиомером природного ингибитора. Это означает, что D-протеаза является зеркальным отражением L-протеазы. **е)** Краситель Эванса — ахиральная молекула и связывается с обеими формами фермента. **ж)** Нет. Химотрипсин не расщепляет D-протеазу, поскольку протеазы содержат только L-аминокислоты и распознают только L-пептиды. **з)** Не всегда. В зависимости от особенностей фермента при его синтезе могут возникать различные проблемы, перечисленные в пункте (б), в результате чего фермент может оказаться неактивным.

Глава 5

1. Белок В обладает более высоким сродством к лиганду X: для него полунасыщение достигается при значительно меньшей концентрации X, чем для белка А. Для белка А $K_a = 10^6 \text{ М}^{-1}$, для белка В $K_a = 10^9 \text{ М}^{-1}$.
2. Во всех трех случаях $n_H < 1$. При связывании лиганда кажущуюся отрицательную кооперативность можно объяснить наличием в белке центров связывания двух или нескольких типов с разным сродством к лиганду или присутствием нескольких белков в растворе. Кажущаяся отрицательная кооперативность часто наблюдается в гетерогенных белковых образцах. Примеров истинной отрицательной кооперативности известно совсем немного.
3. **а)** Снижается; **б)** повышается; **в)** снижается; **г)** снижается.
4. $k_d = 8,9 \cdot 10^{-5} \text{ с}^{-1}$.
5. Кооперативность связывания кислорода гемоглобином обусловлена взаимодействиями между субъединицами этого белка.
6. **а)** Тот факт, что гемоглобин А (HbA, гемоглобин матери) при $pO_2 = 4 \text{ кПа}$ насыщен примерно на 60%, тогда как гемоглобин F (HbF, гемоглобин плода) в тех же условиях насыщен более чем на 90%, указывает на более высокое сродство HbF к O_2 по сравнению с HbA. **б)** Более высокое сродство HbF к кислороду обеспечивает перемещение кислорода из материнской крови в кровь плода через плаценту. Кровь плода близка к насыщению кислородом за счет сравнительно низкого сродства HbA к кислороду. **в)** Тот факт, что кривая насыщения HbA кислородом при связывании БФГ сдвигается сильнее, чем кривая насыщения HbF, говорит о том, что HbA связывает БФГ прочнее, чем HbF. Различие в связывании БФГ двумя типами гемоглобина может определять их различное сродство к O_2 .

7. а) Hb Memphis; б) HbS, Hb Milwaukee, Hb Providence, возможно Hb Cowtown; в) Hb Providence.

8. Сильнее. Неспособность образовывать тетрамеры ограничивает кооперативность связывания в случае этих вариантов, и кривая связывания принимает более выраженный гиперболический характер. Также повреждается центр связывания БФГ. Кислород, скорее всего, связывается сильнее, поскольку в отсутствие связанного БФГ белок находится в высокоаффинном состоянии R.

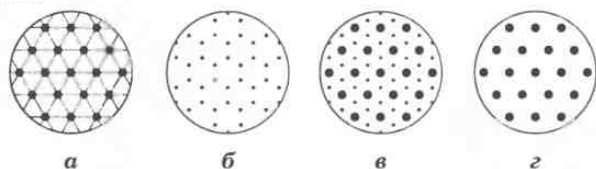
9. а) $1 \cdot 10^{-8}$ М; б) $5 \cdot 10^{-8}$ М; в) $8 \cdot 10^{-8}$ М; г) $2 \cdot 10^{-7}$ М. Замечание: уравнение 5-8 можно привести к виду $[L] = \theta K_d / (1 - \theta)$.

10. Скорее всего. эпитопом является некая структура, которая оказывается скрытой при связывании G-актина с F-актином.

11. Во многих патогенах, включая ВИЧ, возникли механизмы, с помощью которых они могут постоянно изменять структуру поверхностных белков, с которыми изначально связывались компоненты иммунной системы. В результате хозяйский организм каждый раз встречается с новыми антигенами, для уничтожения которых иммунной системе требуется время. Как только иммунная система реагирует на один вариант, сразу же появляется другой.

12. Связывание миозина с АТФ вызывает диссоциацию миозина из комплекса с тонкими активновыми филаментами. Когда АТФ отсутствует, актин и миозин прочно связаны друг с другом.

13.



14. а) L – легкая цепь, а H – тяжелая цепь Fab-фрагмента данного антитела. Цепь Y – это лизоцим. б) В варибельной и константной областях фрагмента преобладают β-структуры. в) В тяжелой цепи 218 остатков, в легкой цепи 214 остатков, в лизоциме 129 остатков. В контакте с Fab-фрагментом находится менее 15% молекулы лизоцима. г) Из последовательности H-цепи в контакте с лизоцимом могут находиться Gly³¹, Tyr³², Arg⁹⁹, Asp¹⁰⁰ и Tyr¹⁰¹. Из последовательности L-цепи – Tyr³², Tyr⁴⁹, Tyr⁵⁰ и Trp⁹². В зоне контакта антиген-антитело находятся следующие остатки лизоцима: Asn¹⁹, Gly²², Tyr²³, Ser²⁴, Lys¹¹⁶, Gly¹¹⁷, Thr¹¹⁸, Asp¹¹⁹, Gln¹²¹ и Arg¹²⁵. Не все эти остатки расположены рядом друг с другом в первичной структуре. Центр связывания антигена образуется из различных участков белковой последовательности при их сближении в процессе укладки.

15. а) Наибольшим сродством к лиганду L обладает белок с $K_d = 5$ мкМ. В случае $K_d = 10$ мкМ удвоение $[L]$ от 0,2 до 0,4 мкМ (что намного ниже K_d) приводит почти к двукратному увеличению θ (на самом деле значение возрастает в 1,96 раза). Это свойство гиперболической зависимости: при низких концентрациях лиганда θ почти линейным образом зависит от $[L]$. Напротив, удвоение $[L]$ от 40 до 80 мкМ (это выше значения K_d ; в этой области кривая связывания приближается к своему асимптотическому пределу) приводит к росту θ всего в 1,1 раза. Идентичное увеличение фактора θ наблюдается для кривых, построенных на основании уравнения 5-11. б) $\theta = 0,998$. в) Результаты зависят от значений вводимых параметров.

16. а)

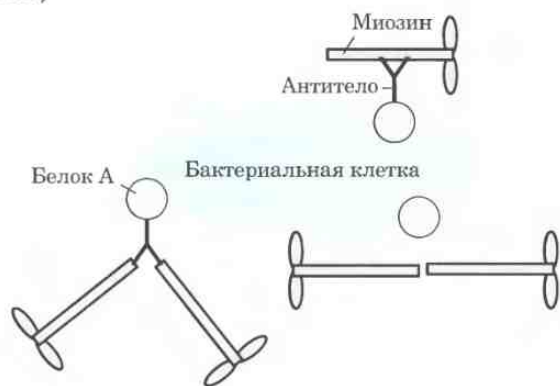


Рисунок выполнен не в масштабе. В реальности на поверхности любой клетки связано гораздо больше молекул миозина. б) АТФ является источником энергии, приводящей систему в движение (см. гл. 13). в) Если бы исследователи использовали антитело, которое связывается не с «хвостом» миозина, а с «головкой», где расположен участок связывания актина, это не позволило бы актину связаться с миозином и, следовательно, предотвратило бы перемещение. Антитело, которое связывается с актином, также мешало бы связыванию и перемещению. г) Есть два возможных объяснения. (1) Трипсин расщепляет пептидную связь только у остатков Lys и Arg (см. табл. 3-7), так что в белке существует лишь небольшое число возможных участков расщепления трипсином. (2) Не все остатки Arg и Lys одинаково доступны для фермента; первым расщепляется наиболее доступный сайт. д) Модель S1. «Шарнирная модель» предсказывает, что двигаться могут только комплексы шарик/антитела/HMM (с шарниром), но не комплексы шарик/антитела/SHMM (без шарнира). Модель S1 предсказывает, что двигаться могут оба типа комплексов, поскольку оба содержат «головку» S1. Тот факт, что система ша-

рик/SHMM (без шарнира) движется, подтверждает справедливость модели S1. **е)** При низкой плотности связывания молекул миозина шарики время от времени были бы отсоединены от актина. Шарики передвигались бы медленно, поскольку после отсоединения одной молекулы миозина требуется время для присоединения следующей. При высокой плотности связывания миозина после отсоединения одной молекулы сразу же связывается вторая, и движение происходит быстрее. **ж)** Выше определенной плотности молекул миозина скорость перемещения шариков начинает определяться скоростью, с которой молекулы миозина способны перемещать шарики. Поскольку молекулы миозина движутся с максимальной скоростью, добавление новых молекул не приводит к увеличению скорости. **з)** Поскольку движущая сила формируется в «головке» S1, повреждение «головки» вполне могло инактивировать молекулу, и SHMM мог потерять способность перемещать шарики. **и)** Скорее всего, формирование «головки» S1 обеспечивают нековалентные взаимодействия и этого вполне достаточно для сохранения функциональности этого фрагмента.

Глава 6

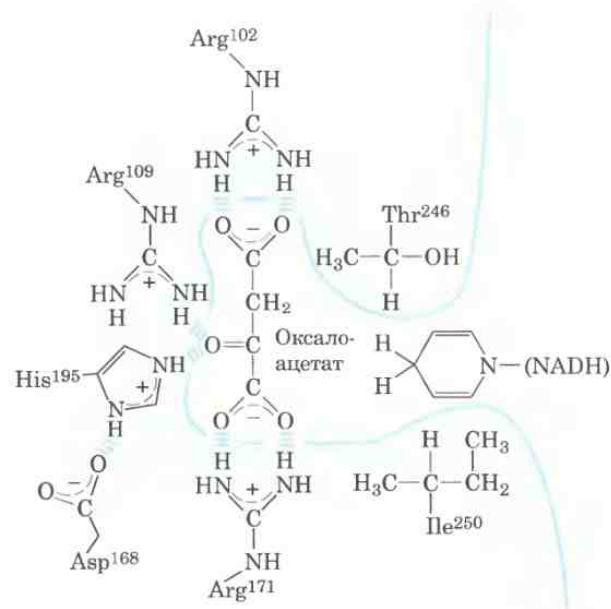
1. При нагревании теряется активность фермента, превращающего сахар в крахмал.
2. $2,4 \cdot 10^{-6}$ М.
3. $9,5 \cdot 10^8$ лет.
4. Фермент-субстратный комплекс устойчивее свободного фермента.
5. **а)** 190 Å; **б)** при фолдинге белка эти аминокислотные остатки сближаются.
6. Скорость реакции можно определить по уменьшению поглощения NADH при 340 нм в процессе реакции. Сначала определяем K_M . При концентрации субстрата $\gg K_M$ измеряем начальную скорость реакции (скорость расходования NADH, определяется с помощью спектрофотометра) при нескольких концентрациях фермента и строим график зависимости начальной скорости от концентрации фермента. График должен быть линейным, а угол его наклона является мерой активности ЛДГ.
7. **б), (д), (ж).**
8. **а)** $1,7 \cdot 10^{-3}$ М; **б)** 0,33; 0,67; 0,91; **в)** верхняя кривая соответствует ферменту В (для этого фермента $[X] > K_M$), а нижняя кривая — ферменту А.
9. **а)** 400 с^{-1} ; **б)** 10 мкМ; **в)** $\alpha = 2$, $\alpha' = 3$; **г)** смешанный тип ингибирования.

10. **а)** 24 нМ; **б)** 4 мкМ ($v_0 \approx \frac{1}{2} V_{\max}$, так что $[A] = K_M$); **в)** 40 мкМ ($v_0 = \frac{1}{2} V_{\max}$, так что $[A] = 10 K_M$ в присутствии ингибитора); **г)** не достигает; $k_{\text{cat}}/K_M = 0,33/(4 \cdot 10^{-6} \text{ М} \cdot \text{с}^{-1}) = 8,25 \cdot 10^4 \text{ М}^{-1} \cdot \text{с}^{-1}$, что значительно ниже диффузионно контролируемого предела.
11. $V_{\max} \sim 140 \text{ мкМ/мин}$, $K_M \sim 1 \cdot 10^{-5} \text{ М}$.
12. **а)** $V_{\max} = 51,5 \text{ мМ/мин}$, $K_M = 0,59 \text{ мМ}$; **б)** конкурентное ингибирование.
13. $K_M = 2,2 \text{ мМ}$, $V_{\max} = 0,50 \text{ мкМ/мин}$.
14. Кривая А.
15. $k_{\text{cat}} = 2,0 \cdot 10^7 \text{ мин}^{-1}$.
16. Сохраняются те же приближения, что и при выводе уравнения Михаэлиса–Ментен. Реакция находится в стационарном состоянии, поэтому скорость реакции описывается уравнением $v_0 = k_2[ES]$. Запишем все известные нам соотношения для определения $[ES]$:

$$[E_t] = [E] + [ES] + [EI] \text{ и } [EI] = [E][I]/K_i$$
 $[E]$ можно определить, пользуясь уравнением 6-19. Далее следует идти тем же путем, что и при выводе уравнения Михаэлиса–Ментен.
17. Минимальное значение $M_r = 29\,000$.
18. Активность фермента простаты определяется как общая активность фосфатазы в крови за вычетом активности фосфатазы в присутствии достаточного количества тартрата, специфически и полностью ингибирующего эту форму фермента.
19. Смешанный тип ингибирования. Поскольку значение K_M практически не изменяется, это может быть примером особого случая смешанного ингибирования, называемого неконкурентным ингибированием.
20. Значение $[S]$, при котором $v_0 = V_{\max}/2\alpha'$, можно найти из правой части уравнения 6-30:

$$[S]/(\alpha K_M + \alpha'[S]) = \frac{1}{2} \cdot \alpha'.$$
21. Оптимум ферментативной активности достигается, когда остаток Glu³⁵ протонирован, а остаток Asp⁵² депротонирован.
22. **а)** Увеличится в 1,96 раз; $v_0 = 50 \text{ мкМ} \cdot \text{с}^{-1}$; увеличится в 1,048 раз; **б)** Когда $\alpha = 2,0$, кривая сдвигается вправо, поскольку K_M увеличивается в 2 раза. Когда $\alpha' = 3,0$, асимптота кривой (значение $V_{\max}$) снижается в 3 раза. Когда $\alpha = 2,0$, а $\alpha' = 3,0$, кривая круто поднимается по отношению к кривой, для которой $\alpha = \alpha' = 1,0$, из-за уменьшения K_M . Однако асимптота кривой низкая, поскольку $V_{\max}$ уменьшается в 3 раза. **в)** Когда $\alpha = 2,0$, точка пересечения кривой с осью x сдвигается вправо. Когда $\alpha = 2,0$, а $\alpha' = 3,0$, точка пересечения с осью x смещается влево.

23. а) В центре связывания фермента дикого типа субстрат удерживается с помощью водородных связей и ион-дипольных взаимодействий между заряженной боковой цепью остатка Arg¹⁰⁹ и полярной карбонильной группой пирувата. В процессе катализа заряженная боковая группа Arg¹⁰⁹ стабилизирует поляризованное карбонильное переходное состояние. В случае мутантного фермента связывание гораздо слабее, поскольку осуществляется исключительно водородными связями, и стабилизации переходного состояния не происходит, что снижает каталитическую активность. б) Остатки Lys и Arg имеют приблизительно одинаковый размер и одинаковый положительный заряд, возможно, они обладают похожими свойствами. Кроме того, поскольку пируват, по-видимому, связан с остатком Arg¹⁷¹ ионными силами, можно предположить, что замена Arg на Lys не оказывает серьезного влияния на связывание субстрата. в) В конфигурации «вилки» две положительно заряженные группы Arg могут взаимодействовать с двумя отрицательно заряженными атомами кислорода в молекуле пирувата, что способствует образованию двух связей смешанного типа (водородных связей и ион-дипольных взаимодействий). Если место Arg занимает Lys, возникает лишь одна такая связь, что ослабляет взаимодействие, и ориентирование субстрата происходит менее точно. г) Гидрофобный остаток Ile²⁵⁰ взаимодействует с гидрофобным циклом NADH. С гидрофильной боковой цепью Gln такое взаимодействие невозможно. д) Расположение аминокислотных остатков в активном центре мутантной ЛДГ представлено ниже.

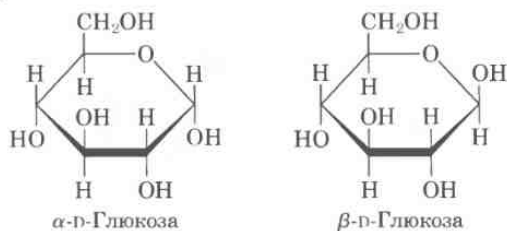


е) Мутантный фермент выталкивает пируват, поскольку гидрофобная метильная группа пирувата не может взаимодействовать с гидрофильной гуанидиновой группой Arg¹⁰². Связывание оксалоацетата обеспечивают сильные ионные взаимодействия между боковой цепью Arg¹⁰² и карбоксильной группой оксалоацетата. ж) Белок должен быть достаточно гибким, чтобы разместить объемную боковую цепь нового аминокислотного остатка и более крупный субстрат.

Глава 7

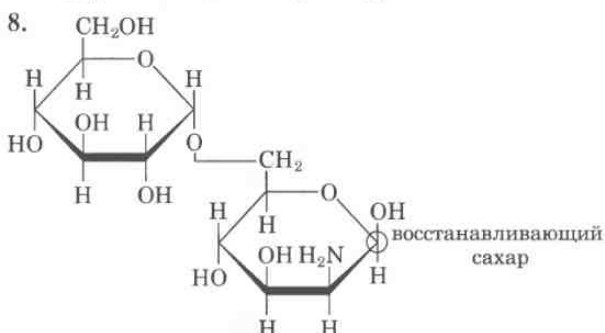
1. В результате восстановления кислорода карбонила до гидроксила атомы C1 и C3 стали химически эквивалентными: молекула глицерина не имеет хиральных центров.
2. Эпимеры различаются конфигурацией заместителей лишь у *одного* атома углерода. а) D-альтроза (C2), D-глюкоза (C3), D-гулоза (C4); б) D-идоза (C2), D-галактоза (C3), D-аллоза (C4); в) D-арабиноза (C2), D-ксилоза (C3).
3. При образовании оозона изменяется конфигурация заместителей у атома C2 в альдозах, поэтому альдозы, различающиеся лишь конфигурацией заместителей у атома C2, превращаются в одинаковые соединения с одинаковой температурой плавления.

4. а)



- б) Свежеприготовленный раствор α -D-глюкозы или β -D-глюкозы подвергается мутаротации и постепенно образует равновесную смесь α - и β -форм. в) 36% α -формы, 64% β -формы.
5. Для превращения α -D-глюкозы в β -D-глюкозу нужно разорвать связь между атомом C1 и гидроксильной группой у C5 (как на рис. 7-6). Для превращения D-глюкозы в D-маннозу нужно разорвать связь атома C2 либо с -H, либо с -OH. Превращения конформации «кресло» не требуют разрыва связей, в этом и заключается главное различие между конфигурацией и конформацией.
6. Нет; глюкоза и галактоза различаются расположением заместителей у атома C4.
7. а) Оба полимера состоят из звеньев D-глюкозы, но в целлюлозе эти звенья соединены (β 1 $\rightarrow$ 4)-связью, а в гликогене (α 1 $\rightarrow$ 4)-связью. б) Оба соединения —

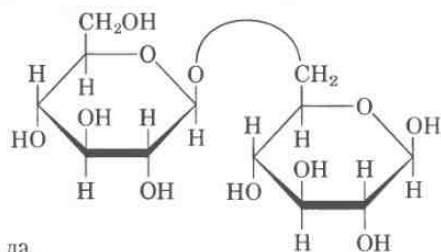
гексозы, но глюкоза — это альдогексоза, а фруктоза — кетогексоза. **в)** Оба соединения — дисахариды, но в мальтозе два остатка D-глюкозы соединены ($\alpha 1 \rightarrow 4$)-связью, а в сахарозе остатки D-глюкозы и D-фруктозы соединены ($\alpha 2 \leftrightarrow 2\beta$)-связью.



9. Полуацеталь образуется при конденсации альдозы или кетозы со спиртом; гликозид — при конденсации полуацетала со спиртом (см. рис. 7-5, т. 1, с. 343).
10. При замыкании цикла фруктоза образует либо пиранозу, либо фуранозу. При повышении температуры равновесие сдвигается в сторону фуранозы, а она менее сладкая.
11. Мальтоза; в сахарозе нет восстанавливающей (окисляемой) группы, поскольку аномерные атомы углерода обоих моносахаридных звеньев участвуют в образовании гликозидной связи.
12. Скорость мутаротации достаточно высокая, так что по мере использования ферментом β -D-глюкозы все больше α -D-глюкозы превращается в β -форму, и постепенно окисляется вся глюкоза. Глюкозооксидаза специфична по отношению к глюкозе и не взаимодействует с другими восстанавливающими сахарами (такими как галактоза), которые реагируют с реактивом Фелинга.

13. **а)** Определить скорость изменения оптического вращения; **б)** оптическое вращение смеси измеряется относительно раствора сахарозы; **в)** $-2,0^\circ$.
14. Смешать сахарозу с водой (начинка), добавить небольшое количество сахаразы (инвертазы) и медленно покрыть шоколадом.
15. В сахарозе нет свободного аномерного атома углерода, который мог бы подвергаться мутаротации.

16.



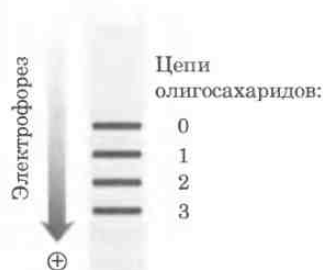
Да; да.

17. N-Ацетил- β -D-глюкозамин — восстанавливающий сахар, его атом C1 может окисляться (см. рис. 7-10, т. 1, с. 347). D-Глюконат — невосстанавливающий сахар, его атом C1 уже находится в окисленном состоянии. GlcN($\alpha 1 \leftrightarrow 1\alpha$)Glc — невосстанавливающий сахар, поскольку аномерные атомы углерода обоих звеньев участвуют в образовании гликозидной связи.
18. В желудочно-кишечном тракте человека нет целюлаз, и поэтому люди не могут расщеплять целлюлозу.
19. Нативная целлюлоза состоит из мономеров глюкозы, соединенных ($\beta 1 \rightarrow 4$)-гликозидными связями, которые придают цепи вытянутую конформацию. Параллельные цепи образуют между собой водородные связи и собираются в длинные, жесткие и нерастворимые волокна. Гликоген состоит из мономеров глюкозы, соединенных ($\alpha 1 \rightarrow 4$)-гликозидными связями, из-за которых полимерные цепи изгибаются и не образуют длинных волокон. Кроме того, гликоген сильно разветвлен и многие из его гидроксильных групп находятся в контакте с водой, поэтому он легко гидратируется и диспергируется в воде.

Целлюлоза образует структурный каркас растений, состоящий из протяженных нерастворимых волокон. Гликоген служит запасным веществом в организме животных. Гидратированные гранулы гликогена, содержащие множество невосстанавливающих концов, быстро гидролизуются гликогенфосфорилазой с образованием глюкозо-1-фосфата.

20. Целлюлоза в несколько раз длиннее; она находится в вытянутой конформации, тогда как амилоза имеет спиральную структуру.
21. 6000 остатков/с.
22. 11 с.
23. Шаро-стержневая модель дисахарида на рис. 7-19 (т. 1) не отражает пространственных взаимодействий в молекуле, а вот СРК-модель, в которой относительные размеры атомов соответствуют реальным, может показать стерическое напряжение в конформере -170° , -170° , которого нет в конформере 30° , -40° .
24. Отрицательно заряженные группы в молекуле хондроитинсульфата отталкиваются, что заставляет молекулу принять вытянутую конформацию. Полярные молекулы притягивают множество молекул воды, что увеличивает общий объем молекулы. В сухом виде отрицательные заряды уравновешиваются положительными противоионами, и молекула укорачивается.

25. Положительно заряженные аминокислотные остатки связываются с отрицательно заряженными группами гепарина. Известно, что с гепарином взаимодействует остаток Lys антитромбина III.
26. Восемь возможных последовательностей, 144 связи и 64 стереоизомера – всего 73 728 перестановок!
- 27.



28. Олигосахарид; мономерные звенья сахаров могут комбинироваться большим числом способов, чем звенья олигопептидов. Каждая гидроксильная группа может участвовать в образовании гликозидной связи, и сама эта связь может иметь α - или β -конфигурацию. Полимер может быть как линейным, так и разветвленным.
29. а) 2,3-ди-О-метилглюкоза образуется из остатков, расположенных в точках ветвления, все остальные остатки превращаются в 2,3,6-три-О-метилглюкозу; б) 3,75%.
30. Остатки D-глюкозы соединены (1 $\rightarrow$ 6)-связями; боковые разветвления (примерно через каждые 20 остатков) – (1 $\rightarrow$ 3)-связями.
31. а) Нужно растворить небольшое количество образца в разных растворителях, а затем исследовать растворы и нерастворенные осадки, чтобы установить, различаются ли они по химическому составу. б) Все молекулы чистого вещества идентичны, поэтому химический состав этого вещества в растворе и осадке одинаков. В грязном веществе содержится более одного компонента. В каком-то из растворителей один из компонентов может растворяться лучше другого. Поэтому составы раствора и осадка различны. в) Данные количественного анализа позволяют утверждать, что при деградации ферментативная активность не теряется. Для определения структуры молекулы очень важно, чтобы в образце находились только интактные (неповрежденные) молекулы. Если же образец подвергся частичному разрушению, результаты структурного анализа будут неточными и, возможно, неинтерпретируемыми. Количественный анализ позволяет определить очень незначительную ферментативную активность даже при больших разрушениях образца. г) Результаты 1 и 2. Результат 1 согласуется с извест-

ной структурой: антиген В содержит три молекулы галактозы, а антигены А и 0 – только по две. Результат 2: антиген А содержит два аминокислота – N-ацетилгалактозамин и N-ацетилглюкозамин, а антигены В и 0 – только один N-ацетилглюкозамин. Результат 3 не согласуется с известными фактами: в антигене А соотношение глюкозамина и галактозамина составляет 1 : 1, а в антигене В – 1 : 0.

д) Возможно, образцы содержали примесь или были частично разрушены. Первые два результата оказались верными, поскольку метод анализа был лишь полуколичественным и недостаточно чувствительным, чтобы зафиксировать присутствие примесей. Третий результат количественный и, следовательно, больше отклоняется от предсказанных значений из-за присутствия примеси или разрушения образца.

е) Экзогликозидаза. Эндогликозидаза расщепляла бы антиген 0 на галактозу, N-ацетилгалактозамин или N-ацетилглюкозамин, и хотя бы один из этих сахаров должен был ингибировать расщепление. Поскольку ни один из этих сахаров не ингибировал активность фермента, это была экзогликозидаза, отщеплявшая от цепи лишь концевую группу. Концевым сахаром в молекуле антигена 0 является фукоза, так что фукоза – единственный сахар, который мог бы ингибировать расщепление антигена 0. ж) Эта экзогликозидаза отщепляет N-ацетилгалактозамин от антигена А и галактозу от антигена В. Поскольку в результате этих реакций фукоза не образуется, она не ингибирует расщепление, и образующиеся продукты деградации уже не обладают активностью антигенов А и 0. Однако продукты реакции обладают активностью антигена 0, поскольку расщепление останавливается на фукозе. з) Все результаты согласуются с тем, что изображено на рис. 10-15 (т. 1). На конце антигена 0 расположена фукоза, и лишь фукоза могла бы ингибировать его расщепление. На конце антигена А находится N-ацетилгалактозамин, и лишь этот сахар защищает антиген А от расщепления. Концевой сахар антигена В – галактоза, и это единственный сахар, защищающий антиген В от расщепления.

Глава 8

1. N-3 и N-7.

2. (5')GCGCAATATTTTGAGAAATATTGCGC(3'); последовательность содержит палиндром, что позволит отдельным нитям образовывать шпильку, а две нити могут образовать крестообразную структуру.

3. $9,4 \cdot 10^{-4}$ г.4. а) 40° ; б) 0° .

5. Спираль РНК имеет конформацию А, а спираль ДНК обычно находится в конформации В.

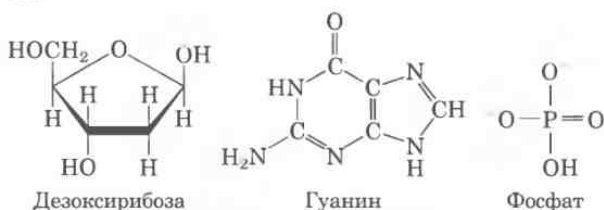
6. В ДНК эукариот около 5% остатков цитозина метилированы. 5-Метилцитозин спонтанным образом дезаминируется, превращаясь в тимин; образующиеся пары Г–Т являются одной из самых распространенных ошибок в ДНК эукариотической клетки.

7. Кольцо рибозы без основания может раскрываться и переходить в нециклическую альдегидную форму. Это, а также исчезновение стекинг-взаимодействий между основаниями может объяснять увеличение подвижности ДНК.

8. Стекинг-взаимодействия в нуклеиновых кислотах приводят к уменьшению поглощения в УФ-области. При денатурации стекинг-взаимодействия исчезают, и поглощение увеличивается.

9. 0,35 мг/мл

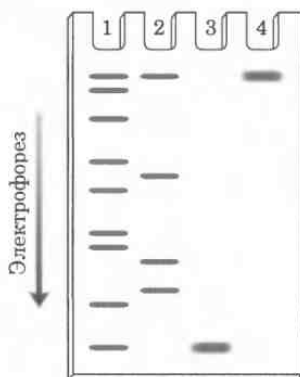
10.



Растворимость: фосфат > дезоксирибоза > гуанин. Сильнополяризованные фосфатные группы и остатки сахара располагаются на внешней поверхности двойной спирали и находятся в контакте с водой, тогда как гидрофобные основания располагаются внутри спирали.

11. Без наличия в смеси dCTP на месте первого же встреченного в матрице остатка Г встроится ddCTP, и полимеризация прекратится. В геле лишь одна полоса.

12.



13. (5')P–GCGCCAUUGC(3')–OH
 (5')P–GCGCCAUUG(3')–OH
 (5')P–GCGCCAUU(3')–OH
 (5')P–GCGCCAU(3')–OH
 (5')P–GCGCCA(3')–OH
 (5')P–GCGCC(3')–OH
 (5')P–GCGC(3')–OH
 (5')P–GCG(3')–OH
 (5')P–GC(3')–OH
 и нуклеозид-5'-фосфаты

14. а) Вода — обязательный участник большинства химических реакций, включая те, что вызывают мутации. Снижение содержания воды в эндоспорах ослабляет активность ферментов, вызывающих мутации, и снижает скорость неферментативных потерь пурина, имеющих гидролитический механизм. б) УФ-облучение способствует образованию циклобутановых пиримидиновых димеров. Поскольку *B. subtilis* обитает в почве, ее споры могут подниматься на поверхность почвы или в воздух и подвергаться длительному УФ-облучению.

15. Концевая группа DMT предотвращает реакцию основания с самим собой.

16. а) Правая спираль. На одном 5'-конце расположен аденин, на другом 5'-конце — цитидин. б) Левая спираль. в) Если вам не удастся увидеть стерсонзображение, обратитесь к Интернету.

17. а) Это непростая задача. Образцы из одного и того же организма достаточно сильно различаются, а выход никогда не достигает 100%. Значения для С и Т согласуются значительно лучше, чем для А и Г, так что для С и Т проще доказать, что все образцы из одного организма имеют одинаковый состав. Однако даже в случае А и Г верно следующее: (1) диапазоны значений для разных тканей в значительной степени перекрываются; (2) различия между разными образцами из одной и той же ткани примерно такие же, как и различия между образцами из разных тканей; (3) в образцах с наиболее высоким выходом значения согласуются лучше. б) Данный метод недостаточно чувствителен, чтобы выявить различия между здоровой и опухолевой тканями. Опухоль связана с появлением мутаций, но таких мутаций всего несколько на миллиард, что слишком мало, чтобы выявить их данным методом. в) У разных видов отношения А : Г и Т : С очень сильно варьируют. Например, для бактерии *Serratia marcescens* оба отношения составляют 0,4, что говорит о том, что в последовательности этой ДНК преобладают Г и С. Напротив, для бактерии *Haemophilus influenzae* эти соотношения составляют 1,74 и 1,54, т. е. ее ДНК состоит главным образом из А и Т.

г) Для справедливости этого утверждения должны выполняться три условия. (1) $A=T$; данные таблицы показывают, что во всех случаях отношение $A : T$ близко к единице. Очевидно, что вариации этого соотношения значительно слабее, чем вариации отношений $A : G$ и $T : C$. (2) $G=C$; опять же, отношение $G : C$ близко к единице, а другие отношения варьируют сильнее. (3) $(A + G) = (T + C)$; это соотношение пуринов к пиримидинам, которое также близко к единице. д) Разные фракции «ядра» соответствуют разным участкам ДНК проростков пшеницы. Если бы ДНК представляла собой монотонно повторяющуюся последовательность, нуклеотидный состав всех участков был бы одинаковым. То, что разные фракции «ядра» имеют разный состав, говорит о более сложном характере последовательности.

и) Эти четыре фрагмента (в том же порядке, в котором они упомянуты в вопросе) следующие (N – любой нуклеотид):

(5')AATTCNNNNCTGCA(3')

(3')GNNNNG(5')

(5')AATTCNNNNGTGCA(3')

(3')GNNNNC(5')

(5')AATTGNNNNCTGCA(3')

(3')CNNNNG(5')

(5')AATTGNNNNGTGCA(3')

(3')CNNNNC(5')

2. ДНК фага λ может быть упакована в инфекционные фаговые частицы только в том случае, если ее размер составляет от 40 000 до 53 000 п. н. Поскольку векторы на основе бактериофагов обычно содержат около 30 000 п. н., они не могут образовывать фаговые частицы, если в них не встраивается дополнительная ДНК необходимой длины (от 10 000 до 23 000 п. н.).

3. а) Восстановленные плазмиды pBR322 без вставки чужеродной ДНК, они сохраняют устойчивость к ампициллину. Кроме того, две или более молекул pBR322 могут смыкаться в кольцо как содержащее, так и не содержащее вставки. б) На дорожках 1 и 2 разделены образцы, содержащие вставку ДНК в разной ориентации. На дорожку 3 нанесен образец, содержащий два фрагмента ДНК, встроенных таким образом, что соединенными оказались проксимальные концы, образующиеся при расщеплении *EcoRI*.

4. Обратим внимание на аминокислоты, для которых существует минимальное число кодонов: Met и Trp. Лучше всего охватить последовательность от кодона для первого Trp до первых двух нуклеотидов кодона для Ile. Такой зонд имеет следующую последовательность:

(5')UGGUA(U/C)UG(U/C)AUGGA(U/C)UGGAU

Синтезировать нужно так, чтобы в каждой из указанных позиций стоял либо U, либо C, в результате чего получится смесь из восьми 20-нуклеотидных зондов, различающихся только по одной или нескольким из указанных позиций.

5. Понадобятся ДНК-праймеры, термостабильная ДНК-полимераза, дезоксинуклеозидтрифосфаты и термоциклер (аппарат для проведения ПЦР). Праймеры нужно синтезировать так, чтобы они охватывали участок ДНК с повтором CAG. На рисунке изображена кодирующая нить, ориентированная слева направо в направлении $5' \rightarrow 3'$. Левый праймер должен быть идентичен любой последовательности из 25 нуклеотидов, находящихся слева от повтора CAG. Правый праймер должен быть

Глава 9

1. а) (5') --- G(3') и (5')AATTC --- (3')

(3') --- CTТАА(5') (3')G --- (5')

б) (5') --- GAATT(3') и (5')AATTC --- (3')

(3') --- CTТАА(5') (3')TTAAG --- (5')

в) (5') --- GAATТААТТС --- (3')

(3') --- CTТААТТААГ --- (5')

г) (5') --- G(3') и (5')C --- (3')

(3') --- C(5') (3')G --- (5')

д) (5') --- GAATTC --- (3')

(3') --- CTТААГ --- (5')

е) (5') --- CAG(3') и (5')CTG --- (3')

(3') --- GTC(5') (3')GAC --- (5')

ж) (5') --- CAGAATTC --- (3')

(3') --- GTCTТААГ --- (5')

з) Метод 1: расщепить ДНК рестриктазой *EcoRI*, как в пункте (а), обработать, как в пункте (б) или (г), а затем лигировать синтетический фрагмент с двумя тупыми концами с последовательностью узнавания рестриктазы *BamHI*. Метод 2 (более эффективный): синтезировать фрагмент ДНК со следующей структурой:

(5')AATTGGATCC(3')

(3')CCTAGGTTAA(5')

Этот фрагмент эффективно лигируется с липкими концами фрагментов, образующихся в результате расщепления рестриктазой *EcoRI*. Так можно встроить сайт узнавания для рестриктазы *BamHI*, но при этом сайт узнавания *EcoRI* исчезает.

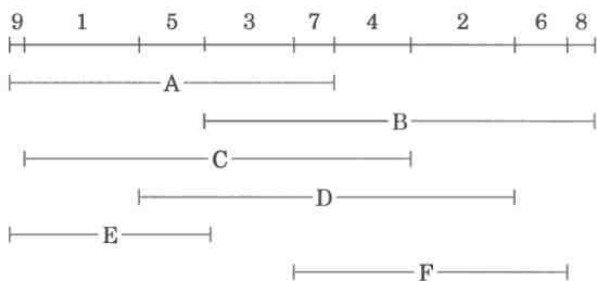
представлен последовательностью комплементарной и антипараллельной к последовательности из 25 нуклеотидов, расположенных справа от повтора CAG. С помощью этих праймеров можно амплифицировать участок ДНК, содержащий повтор CAG, и определить его размер методом электрофореза путем сопоставления с маркерными последовательностями. Длина этого фрагмента ДНК соответствует длине повтора CAG; на этом основан диагностический тест.

6. Можно использовать ПЦР-праймеры, комплементарные ДНК из удаленного сегмента, но такие, которые направляют синтез ДНК не навстречу друг другу, а в противоположные стороны. Продукт ПЦР образуется лишь в том случае, если концы удаленного сегмента смыкаются с образованием кольцевой структуры.

7. Чтобы светиться, растению, экспрессирующему люциферазу светляков, нужен субстрат (люциферин), тогда как растение, экспрессирующее зеленый флуоресцентный белок, светится вне зависимости от наличия других веществ.

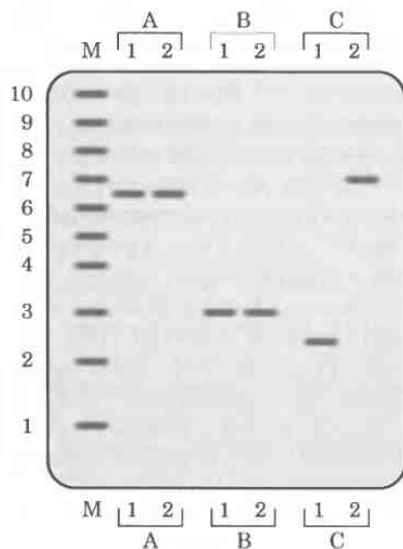
8. Нельзя исключить ни одного ребенка, так как каждый содержит фрагменты ДНК, которые он мог унаследовать от отца.

9.



10. Исключительно из соображений удобства; Ti-плазмида (200 000 п. н.) даже при удалении Т-ДНК слишком велика, чтобы ее можно было количественно выделить из клеток и манипулировать ею *in vitro*. Она также слишком велика для обратного внедрения в клетки с помощью стандартной процедуры трансформации. Гены *vir* облегчают перенос любой ДНК между повторами Т-ДНК, даже если они находятся на разных плазмидах. Вторая плазмида в этой двухплазмидной системе, содержащая только повторы Т-ДНК и несколько последовательностей для отбора плазмиды и ее репликации, имеет сравнительно небольшой размер; ее легко выделить и ею легко манипулировать (в частности, вводить и изменять чужеродную ДНК).

11.



12. Закройте лунку 4, добавьте раствор активированного Т, осветите, отмойте.

1. А-Т 2. G-Т 3. А-Т 4. G-С

Закройте лунки 2 и 4, добавьте раствор активированного G, осветите, отмойте.

1. А-Т-G 2. G-Т 3. А-Т-G 4. G-С

Закройте лунку 3, добавьте раствор активированного С, осветите, отмойте.

1. А-Т-G-С 2. G-Т-С 3. А-Т-G 4. G-С-С

Закройте лунки 1, 3 и 4, добавьте раствор активированного С, осветите, отмойте.

1. А-Т-G-С 2. G-Т-С-С 3. А-Т-G 4. G-С-С

Закройте лунки 1 и 2, добавьте раствор активированного G, осветите, отмойте.

1. А-Т-G-С 2. G-Т-С-С 3. А-Т-G-С 4. G-С-С-С

13. Такие векторы вводятся в клетки, инфицированные вирусом-помощником, который обеспечивает все необходимое для репликации и упаковки, но сам не может упаковываться. С помощью этих векторов рекомбинантная ДНК встраивается в хромосому хозяйской клетки, причем эта интеграция очень стабильная, так как отсутствие функции рекомбинации и упаковки предотвращает делецию и рекомбинацию интегрированной ДНК.

14. а) Растворы ДНК очень вязкие, так как содержат очень длинные, переплетенные между собой молекулы. Чем короче молекулы, тем в меньшей степени они переплетаются и тем ниже вязкость их растворов. Поэтому снижение вязкости означает укорочение нитей полимера, что связано с активностью нуклеазы. б) Это эндонуклеаза. Экзонуклеаза отщепляет отдельные нуклеотиды от 5'- и

3'-концов цепи, в результате чего образуются растворимые в ТХУ меченные ^{32}P нуклеотиды. Эндонуклеаза расщепляет внутренние связи в молекуле ДНК, в результате чего растворимых в ТХУ меченных ^{32}P фрагментов образуется мало. **в)** На 5'-конце. Если бы фосфатная группа осталась на 3'-конце, киназа включила бы значительное количество ^{32}P , поскольку присоединяет фосфатные группы к 5'-концу цепи, и обработка фосфатазой не оказала бы никакого влияния. В таком случае образцы А и В содержали бы значительное количество ^{32}P . Если же фосфат остается на 5'-конце, киназа не может включать ^{32}P , поскольку не может присоединять фосфатную группу к уже существующей. Фосфатаза удаляет фосфат с 5'-конца, и тогда киназа может включать значительное количество ^{32}P . В таком случае в образце А содержится очень мало метки, а в образце В – значительно больше, что и наблюдалось в эксперименте. **г)** Случайные разрывы привели бы к образованию фрагментов со случайным распределением по размеру; образование специфических фрагментов говорит в пользу специфического действия фермента. **д)** Фермент распознает фрагмент и расщепляет его. В результате на 5'-конце этого фрагмента остается специфическая последовательность. Если бы расщепление происходило вблизи сайта узнавания, но не в нем самом, последовательность 5'-концов каждый раз была бы разной. **е)** Эти результаты согласуются с двумя вариантами последовательности (место расщепления показано стрелкой):



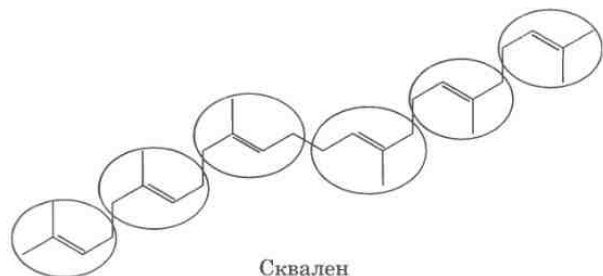
температуру плавления. **б)** Можно создать шесть разных триацилглицеринов, температура плавления которых повышается в следующем ряду:



где О = олеиновая кислота, Р = пальмитиновая кислота. **в)** Жирные кислоты с разветвленной цепью повышают текучесть мембран, поскольку снижают плотность упаковки мембранных липидов.

3. Лецитин, являющийся амфифильным соединением, выступает в качестве эмульгатора, облегчающего солюбилизацию масла.

4.



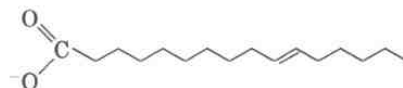
5. Мята — это (*R*)-карвон, тимин — (*S*)-карвон.

6.



7. **Гидрофобные элементы:** (а) две жирные кислоты; (б), (в) и (г) одна жирная кислота и углеводородная цепь сфингозина; (д) стероидное ядро и ацильная боковая группа. **Гидрофильные элементы:** (а) фосфоэтанолламин; (б) фосфохолин; (в) D-галактоза; (г) остатки сахаров; (д) спиртовые группы (ОН-группы).

8.

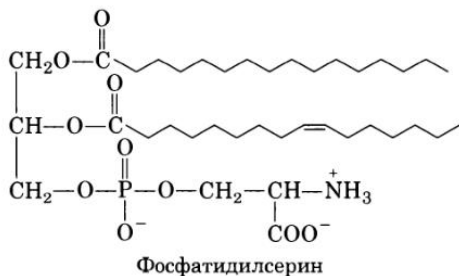


9. Процесс приводит к восстановлению двойных связей, что повышает температуру плавления липидов, содержащих соответствующую жирную кислоту.

Глава 10

- Липидами называют не соединения со специфической химической структурой, а те вещества, которые лучше растворяются в органических растворителях, чем в воде.
- а)** Число *цис*-двойных связей. Каждая *цис*-двойная связь вызывает изгиб углеводородной цепи, снижая

10. Триацилглицерины в составе животного жира (сала) гидролизуются под действием NaOH с образованием мыла (омыление), которые гораздо лучше растворимы в воде, чем исходные соединения.
11. Это может быть только сфинголипид (сфингомиелин).
- 12.



13. Длинные цепи насыщенных углеводов, практически твердые при температуре окружающей среды, образуют на поверхности листьев гидрофобный слой, через который такие полярные соединения, как вода, проникать не могут.
14. а) Свободная OH-группа у атома C2 и фосфохолиновая головка у атома C3 являются гидрофильными; жирная кислота у атома C1 лизолецитина является гидрофобной. б) Некоторые стероиды, такие как преднизон, ингибируют действие фосфолипазы A₂, блокируя отщепление арахидоновой кислоты от атома C2. Арахидоновая кислота является исходным соединением для множества эйкозаноидов, некоторые из них вызывают боль и воспаление. в) Фосфолипаза A₂ высвобождает арахидоновую кислоту — предшественник других эйкозаноидов, выполняющих важные защитные функции в организме. Кроме того, фермент расщепляет поступающие с пищей глицерофосфолипиды.
15. Группу крови определяет олигосахарид головной группы мембранного сфинголипида (см. рис. 10-15, т. 1, с. 503). Этот же олигосахарид соединен с некоторыми мембранными гликопротеинами, которые также служат участками узнавания для антител, распознающих группу крови.
16. Диацилглицерин — это гидрофобное вещество, которое остается в мембране. Инозит-1,4,5-трифосфат — полярное и очень хорошо растворимое в воде вещество, которое гораздо легче диффундирует в цитозоль. Оба вещества выполняют функцию вторичных посредников.
17. Водорастворимые витамины быстро выводятся с мочой и не накапливаются в организме. Жирорастворимые витамины очень плохо растворяются в воде и запасаются в организме в составе липидов.

18. а) Глицерин и натриевые соли пальмитиновой и стеариновой кислот; б) D-глицерин-3-фосфохолин и натриевые соли пальмитиновой и олеиновой кислот.
19. Растворимость в воде: моноацилглицерин > диацилглицерин > триацилглицерин.
20. Вещества сходят с колонки в следующем порядке: холестерилпальмитат и триацилглицерин; холестерин и n-тетрадеканол; фосфатидилхолин и фосфатидилэтаноламин; сфингомиелин; фосфатидилсерин и пальмитат.
21. а) Следует подвергнуть продукты кислотного гидролиза каждого соединения хроматографическому разделению (газожидкостная хроматография или тонкослойная хроматография на силикагеле) и сравнить результаты с известными стандартами. Гидролизат сфингомиелина: сфингозин, жирные кислоты, фосфохолин, холин и фосфат; гидролизат цереброзида: сфингозин, жирные кислоты, сахара, но не фосфаты. б) Сильнощелочной гидролиз сфингомиелина приводит к появлению сфингозина, при гидролизе фосфатидилхолина выделяется глицерин. Состав продуктов гидролиза можно проанализировать методом тонкослойной хроматографии путем сравнения со стандартными веществами или с помощью реакции с FDNB (окрашенный продукт образуется только в реакции со сфингозином). Свободные жирные кислоты выделяются при обработке фосфолипазой A₁ или A₂ только фосфатидилхолина, но не сфингомиелина.
22. Фосфатидилэтаноламин и фосфатидилсерин.
23. а) GM1 и глобозид. И глюкоза, и галактоза относятся к гексозам, так что «гексоза» соответствует эквивалентной смеси глюкоза + галактоза. Молярные соотношения для четырех ганглиозидов следующие: GM1 — 1 : 3 : 1 : 1, GM2 — 1 : 2 : 1 : 1, GM3 — 1 : 2 : 0 : 1, глобозид — 1 : 3 : 1 : 0. б) Да, соответствует; при болезни Тея-Сакса накапливается GM2 (1 : 2 : 1 : 1; см. т. 1, доп. 1-2, рис. 1). в) Этот метод анализа аналогичен тому, что был использован Сенгером для определения аминокислотной последовательности инсулина. Анализ каждого фрагмента позволяет найти только его состав, но не последовательность, но поскольку каждый фрагмент отличается от предыдущего лишь на один остаток сахара, можно определить последовательность звеньев. Структура нормального асиалоганглиозида: церамид-глюкоза-галактоза-галактозамин-галактоза (что соответствует последовательности, изображенной в дополнении 10-2 (т. 1), за исключением удаленного в результате гидролиза остатка Neu5Ac). г) Асиалоганглиозид при болезни Тея-Сакса имеет последовательность церамид-глюкоза-галактоза-галактозамин, что соответствует данным, представленным

в доп. 10-2 (т. 1). **д)** Строение нормального асialogанглиозида GM1 следующее: *церамид-глюкоза* (2 OH-группы участвуют в образовании гликозидных связей, 1 OH-группа задействована в кольце, 3 OH-группы (2,3,6) свободны и подвергаются метилированию) – *галактоза* (2 OH – в гликозидных связях, 1 OH – в кольце, 3 OH (2,4,6) свободны для метилирования) – *галактозамин* (2 OH – в гликозидных связях, 1 OH – в кольце, 1 NH₂ (вместо OH) и 2 OH (4,6) свободны для метилирования) – *галактоза* (1 OH – в гликозидной связи, 1 OH – в кольце и 4 OH (2,3,4,6) свободны для метилирования). **е)** Не хватает следующих данных: (1) какой связью соединены между собой звенья и (2) где присоединена Neu5Ac?

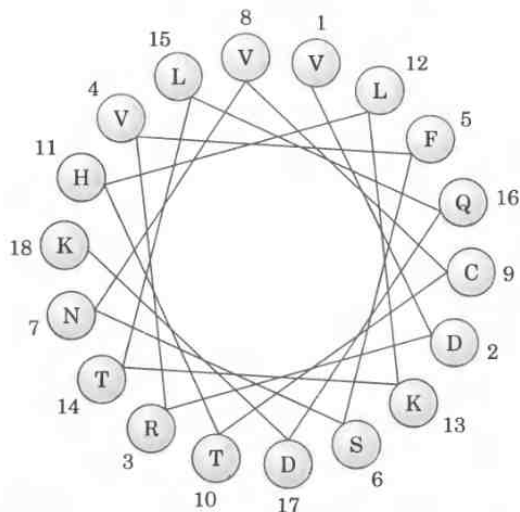
Глава 11

1. Зная количество липида, его молекулярную массу и площадь поверхности монослоя (определенную, как показано на рисунке), можно рассчитать площадь поверхности одной молекулы.
2. Данные указывают на существование двойного липидного слоя в эритроцитах собаки: единичная клетка с площадью поверхности 98 мкм² окружена монослоем липидов площадью 200 мкм². В случае овцы и человека данные указывают на то, что клетки покрыты не двойным, а одинарным липидным слоем. Эти ранние эксперименты были выполнены с довольно низкой точностью, более поздние эксперименты подтвердили существование двойного липидного слоя во всех случаях.
3. 63 молекулы SDS на одну мицеллу
4. **а)** Липиды, образующие двойной слой, являются амфифильными молекулами: они содержат и гидрофильный, и гидрофобный участки. Для минимизации области контакта с водой липиды образуют двумерные слои, в которых гидрофильные участки обращены к воде, а гидрофобные сосредоточены внутри липидного слоя. Кроме того, чтобы границы слоя не контактировали с водой, двойной липидный слой замыкается сам на себя. **б)** Эти слои образуют замкнутые мембраны, обволакивающие клетки и внутриклеточные отделы (органеллы).
5. 2 нм; длина двух вытянутых друг за другом молекул пальмитата составляет примерно 4 нм, что приблизительно соответствует толщине типичного двойного слоя липидов.
6. Снижение скорости диффузии. Перемещение отдельных молекул липидов в двойном слое происходит гораздо быстрее при 37 °С, когда липиды находятся в «жидкой» фазе, чем при 10 °С, когда они находятся в «твердой» фазе.

7. 35 кДж/моль, если не учитывать влияние трансмембранного электрического потенциала; 0,60 моль.
8. 13 кДж/моль
9. Большая часть потребляемого тканью кислорода расходуется на окислительное фосфорилирование, за счет которого образуется основное количество клеточного АТФ. Следовательно, около 2/3 синтезируемого почками АТФ расходуется на перекачивание ионов K⁺ и Na⁺.
10. Не нарушает. Система симпорта может переносить более одного эквивалента ионов Na⁺ при переносе каждого моля глюкозы.
11. Экстракция солью указывает на периферическую локализацию белка, а недоступность белка для протеазы в интактных клетках указывает на его внутриклеточную локализацию. Судя по всему, белок X является периферическим белком, находящимся на цитозольной стороне мембраны.
12. Гидрофобные взаимодействия между мембранными липидами являются нековалентными и обратимыми, что позволяет мембранам самопроизвольно восстанавливаться при повреждении.
13. Температура конечностей ниже температуры туловища. Поскольку клеточные липиды даже при низкой температуре должны сохранять подвижность, они должны содержать больше ненасыщенных жирных кислот. Ненасыщенные жирные кислоты снижают температуру плавления липидных смесей.
14. Перемещение полярных и иногда заряженных групп головок через гидрофобную внутреннюю среду двойного липидного слоя очень невыгодно энергетически.
15. При pH 7 триптофан несет и положительный, и отрицательный заряды, а индол не заряжен. Перемещение менее полярного индола через гидрофобную среду внутри двойного липидного слоя требует значительно меньших энергетических затрат.
16. $3 \cdot 10^{-12}$ с
17. Обработать суспензию клеток немеченым NEM в присутствии избытка лактозы, затем удалить лактозу и добавить NEM, меченный радиоактивной меткой. Использовать электрофорез в присутствии SDS для определения M_r полосы с радиоактивной меткой (переносчик).
18. Построить график гидропатии; гидрофобные участки 20 или более остатков могут составлять трансмембранные сегменты. Определить, взаимодействует ли белок из интактных эритроцитов с проходящими через мембрану реагентами, специфичными к первичным аминам. Если да, то вы имеете дело с переносчиком типа I.

19. Переносчик лейцина специфичен к L-изомеру, однако в его центре связывания может связываться не только L-лейцин, но и L-валин. Снижение $V_{\max}$ в отсутствии Na^+ указывает на перенос лейцина (или валина) по механизму симпорта с ионами Na^+ .
20. $V_{\max}$ снижается, K_t не меняется.
21. Около 1%. Оценка получена путем расчета площади поверхности клетки и с учетом наличия 10 000 копий молекул переносчика (на основании размеров молекулы гемоглобина в качестве модели глобулярного белка, см. с. 233).

22.



Аминокислоты (V, L, F и C) с наибольшим индексом гидропатии сосредоточены на одной стороне спирали. Амфифильная спираль как бы погружается в двойной липидный слой этой своей гидрофобной поверхностью, тогда как другая поверхность обращена к воде. В альтернативном варианте несколько спиралей могут сближаться своими гидрофобными участками, которые при этом также обращены к двойному липидному слою.

23. Примерно 22. Чтобы оценить долю поверхности мембраны, покрытой фосфолипидами, нужно знать (или оценить) среднюю площадь поперечного сечения молекулы фосфолипида в двойном слое (например, с помощью эксперимента, описанного в проблеме 1 в данной главе) и среднюю площадь поперечного сечения белка с молекулярной массой 50 кДа.
24. а) Длина участка α -спирали, приходящаяся на одно основание (гл. 4), составляет около $1,5 \text{ \AA} = 0,15 \text{ нм}$. Чтобы пересечь двойной липидный слой толщиной 4 нм, спираль должна содержать примерно 27 остатков. Следовательно, чтобы сформировать семь таких участков, белок должен содержать примерно 190 остатков. Белок с массой M_r 64 000 со-

стоит примерно из 580 остатков. **б)** Для выявления трансмембранных участков пользуются индексами гидропатии. **в)** Поскольку почти половина этого участка рецептора адреналина состоит из заряженных остатков, возможно, он представляет собой внутриклеточную петлю, соединяющую два соседних трансмембранных участка. **г)** Поскольку спираль состоит в основном из гидрофобных остатков, этот участок рецептора, вероятно, образует одну из трансмембранных спиралей.

25. а) *Модель А:* согласуется. Две темные полосы – это либо слои белка, либо головки фосфолипидов, а светлое пространство – соответственно либо двойной слой, либо гидрофобное ядро. *Модель Б:* не согласуется. Данная модель предполагает более или менее равномерное окрашивание окружающей клетки слоя. *Модель В:* согласуется, но с одним условием. Две темные полосы – это головки фосфолипидов, светлая зона – хвосты. Это означает, что мембранные белки невидимы, поскольку они не окрашиваются осмием или не содержатся в данном участке мембраны. б) *Модель А:* согласуется. «Голый» двойной слой (4,5 нм) плюс два слоя белка (2 нм) в сумме составляют 6,5 нм, что соответствует экспериментальной толщине мембраны. *Модель Б:* ничего нельзя сказать, поскольку данная модель не предсказывает толщину мембраны. *Модель В:* неясно. Результат трудно интерпретировать в рамках данной модели, поскольку она утверждает, что мембрана должна иметь такую же толщину, как «голый» двойной слой (или быть чуть толще из-за выступающих концов встроенных белков). Данные согласуются с моделью только при самых малых из возможных значений толщины мембраны или только если из двойного слоя выступают большие участки белков. в) *Модель А:* неясно. Результаты трудно интерпретировать в рамках модели. Если белки связаны с мембраной ионными взаимодействиями, в соответствии с моделью белки должны содержать много заряженных аминокислот, но мы видим обратное. Кроме того, поскольку слой белка должен быть очень тонким (см. (б)), для гидрофобного ядра белка остается очень мало места, так что гидрофобные остатки должны выступать наружу. *Модель Б:* согласуется. В белках есть как гидрофобные остатки (взаимодействующие с липидами), так и заряженные остатки (взаимодействующие с водой). *Модель В:* согласуется. Белки содержат как гидрофобные остатки (связанные с мембраной), так и заряженные остатки (взаимодействующие с водой). г) *Модель А:* неясно. Результаты трудно интерпретировать в рамках модели, поскольку предсказанное ею значение соотношения площадей составляет точно

2,0, что довольно трудно себе представить при физиологическом давлении. *Модель Б:* ничего нельзя сказать, нет прогноза о количестве липидов в мембране. *Модель В:* согласуется. Некоторые участки поверхности мембраны заняты белками, так что соотношение площадей составляет меньше 2,0, что и наблюдается в физиологических условиях.

д) Модель А: неясно. В соответствии с данной моделью белки имеют скорее вытянутую, чем глобулярную форму, так что модель согласуется с реальностью только при предположении, что находящиеся на поверхности белки содержат спиральные фрагменты. *Модель Б:* согласуется. В рамках модели белки имеют глобулярную структуру (содержащую несколько спиральных участков). *Модель В:* согласуется. В рамках модели белки имеют в основном глобулярную структуру.

е) Модель А: неясно. Фосфатные головки защищены слоем белка, но от действия фосфолипазы фосфолипиды защищены лишь в том случае, если белки полностью покрывают поверхность. *Модель Б:* согласуется. Большинство полярных головок доступно для действия фосфолипазы. *Модель В:* согласуется. Все полярные головки доступны для действия фосфолипазы.

ж) Модель А: не согласуется. Белки полностью доступны для расщепления трипсином и практически все расщепляются во многих местах, включая гидрофобные участки. *Модель Б:* не согласуется. Практически все белки находятся внутри двойного слоя и недоступны для действия трипсина. *Модель В:* согласуется. Участки белков, пронизывающие двойной слой или погруженные в него, защищены от действия трипсина, а те, что оказываются на поверхности, подвергаются расщеплению. Устойчивые к действию трипсина участки отличаются высоким содержанием гидрофобных остатков.

Глава 12

1. Вещество X — это сАМР; его синтез активируется адреналином. **а)** При центрифугировании происходит осаждение аденилатциклазы, катализирующей образование сАМР. **б)** Добавление сАМР стимулирует гликогенфосфорилазу. **в)** сАМР устойчив при нагревании, и его можно получить путем обработки АТР гидроксидом бария.
2. В отличие от сАМР дибутирил-сАМР легко проникает через плазматическую мембрану.
3. **а)** Повышает концентрацию сАМР; **б)** сАМР регулирует транспорт Na^+ ; **в)** требуется постоянно восполнять водный и электролитный баланс в организме.

4. **а)** В результате мутации R-субъединица теряет способность связывать С-субъединицу, так что С-субъединица остается постоянно активной; **б)** мутация нарушает связывание сАМР с R-субъединицей, так что С-субъединица ингибируется связанной R-субъединицей.
5. Альбутерол повышает концентрацию сАМР, что приводит к релаксации и расширению бронхов и бронхиол. Поскольку β -адренергические рецепторы контролируют и многие другие процессы, лекарство вызывает ряд нежелательных побочных эффектов. Для их минимизации нужен специфический агонист подтипа β -адренергических рецепторов, содержащихся в гладких мышцах бронхов.
6. Разрушение гормона, гидролиз GTP, связанного с G-белком, расщепление, метаболизм или удаление вторичного посредника, десенсибилизация рецептора, удаление рецептора от поверхности клетки.
7. Получить слитые белки, состоящие из CFP и β -аррестина, YFP и цитоплазматического домена β -адренергического рецептора (или наоборот). Слитые белки облучить светом с длиной волны 433 нм и измерить пропускание при 476 и 527 нм. Если взаимодействие происходит, то при добавлении к клеткам, экспрессирующим слитый белок, адреналина должно наблюдаться увеличение пропускания при 527 нм и уменьшение пропускания при 476 нм. Если взаимодействия нет, проходит только свет с длиной волны 476 нм. Причин этого может быть несколько: (1) слитые белки неактивны или не могут взаимодействовать; (2) они не попадают к месту своей обычной локализации; (3) они подвергаются протеолитическому расщеплению.
8. Вазопрессин повышает концентрацию Ca^{2+} до 10^{-6} М, активируя протеинкиназу С. Инъекции ЭГТА блокируют действие вазопрессина, но не влияют на реакцию на глюкагон, который использует в качестве вторичного посредника сАМР, а не Ca^{2+} .
9. Амплификация сигнала является результатом ферментативного каскада, когда один фермент активирует молекулы другого фермента и т. д., например каскада с участием рецептора инсулина, IRS-1, Raf, MEK, ERK; ERK активирует транскрипционный фактор, который стимулирует синтез мРНК.
10. Мутация гена *ras*, имеющая следствием инактивацию GTPазной активности Ras, приводит к образованию белка, который после активации путем связывания GTP продолжает (через Raf) передавать сигнал инсулина.

11. *Общие свойства Ras и G_s*: оба связывают либо GDP, либо GTP; оба активируются GTP; оба, будучи активированными, активируют следующие ферменты каскада; оба обладают собственной GTPазной активностью, которая отключает их через короткий период времени. *Различия между Ras и G_s*: Ras – маленький мономерный белок, G_s – гетеротример. *Функциональное различие между G_s и G_i* заключается в том, что G_s активирует аденилатциклазу, а G_i ее ингибирует.
12. Типы протеинкиназ и факторы их активации (в скобках): PKA (сAMP), PKG (сGMP), PKC (Ca²⁺, ДАГ), Ca²⁺/CaM-киназа (Ca²⁺, CaM), циклин-зависимая киназа (циклин), тирозинкиназа (лиганд рецептора, например инсулин), MAPK (Raf), Raf (Ras), киназа гликогенфосфорилазы (PKA).
13. При связывании негидролизуемого аналога GTP G_s остается в активированной форме; таким образом, аналог продлевает действие адреналина.
14. а) Используйте шарики со связанным α-бунгаротоксином для очистки ацетилхолинового рецептора (см. рис. 3-17, с. 134). Экстрагируйте белки из электрического органа ската и пропустите смесь через хроматографическую колонку; рецептор ацетилхолина связывается с носителем селективным образом. Смойте белок раствором, ослабляющим взаимодействие с α-бунгаротоксином. б) Используйте связывание [¹²⁵I]α-бунгаротоксина для *количественного определения* ацетилхолинового рецептора при разных методах очистки. На каждой стадии очистки определяйте содержание ацетилхолинового рецептора, измеряя связывание [¹²⁵I]α-бунгаротоксина с белками в образце. Оптимизируйте очистку, чтобы добиться максимальной удельной активности рецептора (имп./мин связанного [¹²⁵I]α-бунгаротоксина на мг белка) в конечном образце.
15. а) Нет, не могли. Если бы мембранный потенциал V_m определял проницаемость мембраны по ионам K, то по уравнению Нернста V_m = –90 мВ, а не –95 мВ, так что мембранный потенциал завит от проводимости других ионов. б) Возможно, определяющее влияние на V_m оказывает транспорт ионов хлора; E_{Cl} = –94 мВ.
16. а) V_m мембраны ооцита изменяется от –60 до –10 мВ, т. е. происходит деполяризация мембраны. б) Влияние KCl зависит от притока ионов Ca²⁺ из внеклеточной среды.
17. Гиперполяризация приводит к закрытию потенциалзависимых Ca²⁺-каналов в пресинаптическом отделе палочек сетчатки. Происходящее в результате этого снижение концентрации Ca²⁺ приводит к ослаблению ингибирующего нейромедиатора, что снижает активность следующего нейрона. Когда в ответ на световой стимул это ингибирование снимается, сигнальный путь активируется, и происходит возбуждение зрительных центров в головном мозге.
18. а) В этой ситуации нарушается приток ионов Na⁺ и Ca²⁺ в клетки в ответ на световой сигнал; колбочки теряют способность передавать в мозг сигнал о том, что до них дошел свет. Палочки сохраняют свою функцию, поэтому человек с такой мутацией сохраняет зрение, но теряет способность различать цвета. б) В этом случае останавливается отток из клеток ионов K⁺, что приводит к деполяризации мембраны β-клеток и конститутивному высвобождению инсулина в кровь. в) АТФ отвечает за закрытие этого канала, так что канал остается открытым, а это мешает деполяризации мембраны β-клеток и высвобождению инсулина.
19. При болезни Огучи может быть повреждена родопсинкиназа или аррестин.
20. Мембранный потенциал палочек больше не изменяется в ответ на световой сигнал. Такой эксперимент был проделан. Освещение активировало фосфодиэстеразу, но фермент мало снижал уровень 8-Br-сGMP, который был намного выше, чем требуется для открытия ионных каналов. Поэтому свет не вызывал изменения мембранного потенциала.
21. а) При нагревании каналы TRPV1 открываются, что вызывает приток Na⁺ и Ca²⁺ в чувствительный нейрон. Это приводит к деполяризации мембраны и запускает потенциал действия. Когда потенциал действия достигает окончания аксона, происходит высвобождение нейромедиатора, сигнализирующего нервной системе о восприятии тепла. б) Капсаицин имитирует действие тепла, открывая каналы TRPV1 при низкой температуре, что вызывает ложное ощущение тепла. Чрезвычайно низкое значение EC₅₀ говорит о том, что капсаицин оказывает сильнейшее действие даже в очень малом количестве. в) В низкой концентрации ментол должен открывать каналы TRPM8, что вызывает ощущение холода; в более высокой концентрации он открывает каналы и TRPM8, и TRPV3, что вызывает смешанное ощущение холода и тепла, которое знакомо тем, кто ел мятные конфеты с очень концентрированным вкусом.
22. а) Эти мутации могут привести к перманентной активации рецептора PGE₂, что нарушает регуляцию клеточного цикла и образованию опухоли. б) Вирусные гены могут кодировать конститу-

тивно активную форму рецептора, заставляя клетку постоянно делиться, что вызывает образование опухоли. **в)** Белок E1A может связываться с pRb и препятствовать связыванию E2F, так что E2F остается в активном состоянии, что способствует неконтролируемому делению клетки. **г)** Обычно клетки легкого не реагируют на PGE₂, поскольку они не экспрессируют соответствующих рецепторов; мутации, вызывающие конститутивную активацию рецептора PGE₂, не затрагивают легочную ткань.

23. В норме ген опухолевого супрессора кодирует белок, ограничивающий клеточное деление. Мутантная форма белка не подавляет деление клеток, но если одна из двух аллелей кодирует нормальный белок, сохраняется нормальная функция белка. Онкоген в норме кодирует регуляторный белок, который запускает клеточное деление, но только в присутствии правильного сигнала (фактора роста). Продукт мутантного гена непрерывно заставляет клетку делиться вне зависимости от присутствия фактора роста.

24. У ребенка с множественными опухолями в обоих глазах с самого рождения все клетки сетчатки содержат дефектную копию гена *Rb*. Когда-то в раннем возрасте в нескольких клетках независимым образом происходят дополнительные мутации, повреждающие нормальную копию гена *Rb*, что вызывает развитие опухоли. У ребенка с единственной опухолью при рождении обе копии гена *Rb* нормальные; мутации обеих аллелей *Rb* в одной и той же клетке (что происходит очень редко) вызывают появление единичной опухоли.

25. Клетки, на поверхности которых экспрессируется один и тот же рецептор, могут иметь разный набор белковых мишеней для фосфорилирования.

26. а) Клеточная модель, предсказывающая существование разных рецепторов на клетках разного типа. **б)** Эксперимент подтверждает независимость разных вкусовых ощущений. Даже если у животного нет рецепторов сладкого и/или рецепторов умами, другие вкусовые ощущения сохраняются в норме; таким образом, приятные и неприятные ощущения взаимно независимы. **в)** Да. Потеря субъединицы T1R1 или T1R3 лишает возможности воспринимать вкус умами. **г)** Обе модели. В соответствии с любой из моделей удаление одного рецептора влечет потерю соответствующего вкусового ощущения. **д)** Да. Потеря субъединицы T1R2 или T1R3 приводит почти к полному исчезновению ощущения сладости; для полного исчезновения этого ощущения требуется уда-

ление обеих субъединиц. **е)** При очень высокой концентрации сахарозы сладкий вкус могут детектировать гомодимерные рецепторы T1R2 и в меньшей степени T1R3. **ж)** Результаты согласуются с обеими моделями. Связывание лиганда может быть отделено от вкусового ощущения. Если рецептор сладкого связывает любую другую молекулу, мышь воспринимает ее как сладкое вещество.

Глава 13

1. В данном случае система представлена развивающимся цыпленком; питательные вещества, оболочка яйца и внешний мир – окружающая среда. С одной стороны, превращение единственной клетки в цыпленка сопровождается чрезвычайно сильным снижением энтропии системы. С другой стороны, в начальный момент времени части яйца вне зародыша (окружающая среда) содержат сложные молекулы (состояние с низким уровнем энтропии). В процессе инкубации некоторые из этих сложных молекул превращаются в простые молекулы CO₂ и H₂O (энтропия повышается). Это повышение энтропии в окружающей среде больше, чем снижение энтропии в процессе развития зародыша (в системе).

2. а) –4,8 кДж/моль; **б)** 7,56 кДж/моль; **в)** –13,7 кДж/моль.

3. а) 262; **б)** 608; **в)** 0,30.

4. $K'_{\text{eq}} = 21$; $\Delta G^\circ = -7,6$ кДж/моль.

5. –31 кДж/моль.

6. а) –1,68 кДж/моль; **б)** –4,4 кДж/моль; **в)** При данной температуре ΔG° любой реакции имеет фиксированное значение, определенное в стандартных условиях (в данном случае при концентрации фруктозо-6-фосфата и глюкозо-6-фосфата 1 М). Напротив, ΔG – величина переменная, которая рассчитывается заново при каждом изменении концентраций реагирующих веществ и продуктов реакции.

7. $\Delta G^\circ \sim 0$; $K'_{\text{eq}} \sim 1$.

8. Меньше. Суммарный процесс гидролиза АТФ можно аппроксимировать следующим уравнением:

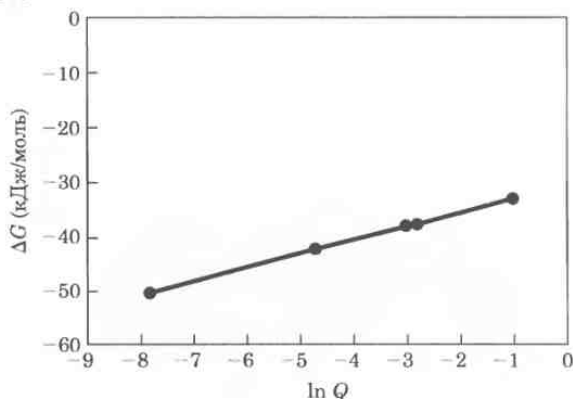


Надо понимать, что частицы, несущие заряд, доминируют, но могут присутствовать и другие формы. При стандартных условиях ($[\text{ATP}] = [\text{ADP}] = [\text{P}_i] = 1$ М) концентрация воды составляет 55 М и не изменяется в ходе реакции. Поскольку в этой реакции образуются ионы H⁺, при более высокой концен-

трации $[H^+]$ (рН 5,0) равновесие сдвигается влево и выделяется меньше свободной энергии.

9. 10.

10.



При низком соотношении $[ATP]/[ADP]$ ($\ll 1$) ΔG гидролиза АТФ уменьшается. При данной концентрации АТФ доступное для клетки количество энергии понижается при уменьшении отношения $[ATP]/[ADP]$ и повышается при его увеличении.

11. а) $3,85 \cdot 10^{-3}$ М; концентрация глюкозо-6-фосфата составляет $8,9 \cdot 10^{-8}$ М; неприемлема. б) 14 М; поскольку максимальная растворимость глюкозы менее 1 М, эта стадия не имеет смысла. в) 837 ($\Delta G^\circ = -16,7$ кДж/моль); концентрация глюкозы составляет $1,2 \cdot 10^{-7}$ М; да. г) Неразумен. Для этого требуется столь высокая концентрация P_i , при которой фосфаты двухвалентных катионов выпадают в осадок. д) Прямой перенос фосфорильной группы от АТФ на глюкозу использует потенциал переноса фосфорильной группы АТФ и не сопровождается образованием высокой концентрации промежуточных соединений. Ключевым моментом этого процесса является ферментативный катализ.

12. а) -12,5 кДж/моль; б) -14,6 кДж/моль.

13. а) $3 \cdot 10^{-4}$; б) 68,7; в) $7,4 \cdot 10^4$.

14. -13 кДж/моль.

15. 46,7 кДж/моль.

16. В результате изомеризации карбонильная группа перемещается от атома С1 к атому С2, обеспечивая расщепление связи между атомами С3 и С4. Если бы не происходило изомеризации, расщеплялась бы связь между атомами С2 и С3, что приводило бы к образованию одной молекулы из двух атомов углерода и одной молекулы из четырех атомов углерода.

17. Механизм аналогичен механизму реакции, катализируемой алкогольдегидрогеназой (рис. 14-13, т. 2).

18. Первая стадия – реакция, обратная альдольной конденсации (рис. 14-5, т. 2), вторая стадия – реакция альдольной конденсации (рис. 13-4, т. 2).

19. а) 46 кДж/моль; б) 46 кг; 68%; в) АТФ синтезируется по мере необходимости, а потом распадается на АДФ и P_i , так что в организме его концентрация поддерживается на стационарном уровне.

20. Концентрация АТФ находится в динамическом стационарном состоянии; она остается постоянной, поскольку скорость потребления АТФ равна скорости его синтеза. При гидролизе АТФ отщепляется концевая (γ) фосфорильная группа; при синтезе АТФ из АДФ происходит замена этой группы. Таким образом, концевая фосфорильная группа находится в быстром обороте. Напротив, оборот центральной (β) фосфорильной группы довольно медленный.

21. а) 1,7 кДж/моль; б) неорганическая пирофосфатаза катализирует гидролиз пирофосфата и направляет всю реакцию в целом в сторону образования ацетил-СоА.

22. 36 кДж/моль.

23. а) $NAD^+/NADH$; б) пируват/лактат; в) образование лактата; г) -26,1 кДж/моль; д) $3,63 \cdot 10^4$.

24. а) 1,14 В; б) -220 кДж/моль; в) ~4.

25. а) -0,35 В; б) -0,320 В; в) -0,29 В.

26. В порядке усиления тенденции: (а). (г). (б). (в).

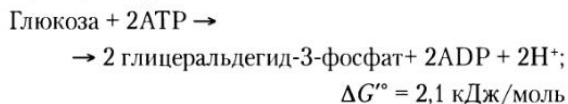
27. (в) и (г).

28. а) Состояние с наименьшей энергией и максимальной энтропией достигается при равенстве концентраций краски в двух клетках. Если межклеточный контакт типа «ловушки для рыбы» позволяет осуществлять односторонний транспорт, в конечном итоге в олигодендрците окажется больше краски, чем в астроците. Это состояние отличается от исходного состояния более высокой энергией и более низкой энтропией, что противоречит второму началу термодинамики, т. е. модель предполагает самопроизвольное уменьшение энтропии, что невозможно. В энергетических терминах модель предусматривает самопроизвольный переход системы из состояния с низкой энергией в состояние с высокой энергией без поступления энергии извне, что опять-таки невозможно. б) Молекулы, в отличие от рыб, не проявляют поведенческих реакций, а находятся в случайном броуновском движении. Диффузия приводит к суммарному перемещению моле-

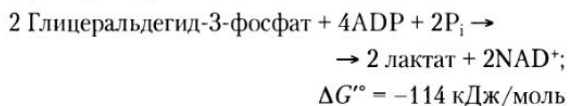
кул из области с более высокой концентрацией в область с более низкой концентрацией по той простой причине, что при большей численности молекул (область с высокой концентрацией) вероятность того, что какая-нибудь из них подойдет к соединительному каналу, выше. Рассмотрим процесс с лимитирующей стадией, когда молекулы входят в узкий канал. Узкий конец канала ограничивает скорость молекул, поскольку при любом случайном движении молекул вероятность их попадания туда низкая. Широкий конец канала — это *не* воронка для молекул (как это может быть для рыб), поскольку молекулы не «сдавливаются» стенками сужающегося канала, как рыбы в ловушке. Узкий конец ограничивает скорость перемещения одинаково в обоих направлениях. При одинаковой концентрации с обеих сторон выравнивается и скорость перемещения в обоих направлениях, и концентрация растворенного вещества остается постоянной. **в)** Поведение рыб *не является случайным* — оно зависит от внешних условий. Рыбы, попавшие в широкий раструб канала, продолжают двигаться вперед по той причине, что они вообще предпочитают двигаться вперед, и по мере сужения канала они начинают подвергаться «сдавливанию». Им легко войти в широкий раструб, но выйти из ловушки гораздо труднее, поскольку трудно пройти узкий выход. **г)** Возможных объяснений может быть несколько, и некоторые из них были предложены критиками данной статьи. Вот два возможных объяснения. (1) *В олигодендроците краситель может связываться с другими молекулами.* Связывание приводит к тому, что молекулы красителя перестают быть частью «свободного» раствора, но продолжают быть видны в флуоресцентный микроскоп. (2) *Краситель может накапливаться в определенном компартменте (органелле) олигодендроцита* либо за счет активного транспорта с затратой АТФ, либо за счет взаимодействия с другими молекулами в этой органелле.

Глава 14

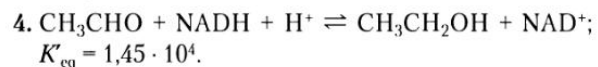
1. Суммарное уравнение:



2. Суммарное уравнение:



3. GLUT2 (и GLUT1) содержится в печени и всегда локализован в плазматической мембране гепатоцитов. GLUT3 всегда присутствует в плазматической мембране некоторых клеток головного мозга. В норме GLUT4 заключен в везикулы клеток мышц и жировой ткани и проникает в плазматическую мембрану только по сигналу инсулина. Таким образом, печень и головной мозг могут потреблять глюкозу из крови вне зависимости от выработки инсулина, тогда как мышцы и жировая ткань потребляют глюкозу только при повышении уровня инсулина, вызванного повышением уровня глюкозы крови.



5. $-8,6 \text{ кДж/моль}.$

6. **а)** $^{14}\text{CH}_3\text{CH}_2\text{OH}$; **б)** $[3\text{-}^{14}\text{C}]$ глюкоза или $[4\text{-}^{14}\text{C}]$ глюкоза.

7. В ходе ферментации выделяется энергия, некоторое количество которой запасается в форме АТФ, но значительная часть рассеивается в виде тепла. Если ферментер не охлаждать, микроорганизмы могут погибнуть от перегрева.

8. В соевых бобах и в зернах пшеницы содержится крахмал — полимер глюкозы. Микроорганизмы расщепляют крахмал до глюкозы, превращают глюкозу в пируват и, поскольку процесс идет в бескислородной среде (это ферментация), далее превращают пируват в молочную кислоту и этиловый спирт. В присутствии O_2 пируват окислялся бы до ацетил-СоА, а затем до CO_2 и H_2O . Однако в присутствии кислорода некоторое количество ацетил-СоА также превращалось бы в уксусную кислоту (уксус).

9. С1. Эксперимент демонстрирует обратимость альдолазной реакции. С1 в глицеральдегид-3-фосфате эквивалентен С4 в фруктозо-1,6-бисфосфате (см. рис. 14-6, т. 2). Исходный глицеральдегид-3-фосфат содержал меченый атом С1. Атом С3 в дигидроксиацетонфосфате становится меченым в реакции, катализируемой триозофосфатизомеразой, в результате образуется меченный по атому С3 фруктозо-1,6-бисфосфат.

10. Не принесет. Анаэробный синтез АТФ не происходил бы, а аэробный синтез АТФ ослаб бы незначительно.

11. Нет, не смогли бы. Лактатдегидрогеназа необходима для рецикла NAD^+ из NADH , образовавшегося в ходе окисления глицеральдегид-3-фосфата.

12. Превращение глюкозы в лактат происходит в миоцитах при недостатке кислорода и в этих условиях

обеспечивает образование АТР. Поскольку лактат может окисляться до пирувата, глюкоза расходуется не напрасно. При достаточном количестве кислорода пируват окисляется в аэробных реакциях. Такая гибкость метаболизма позволяет организму лучше приспосабливаться к изменяющимся условиям внешней среды.

13. Клетка быстро удаляет 1,3-бисфосфоглицерат на следующей благоприятной стадии процесса, катализируемой фосфоглицераткиназой.

14. а) Продукт — 3-фосфоглицерат. б) В присутствии арсената в анаэробных условиях суммарный выход АТР равен нулю.

15. а) При спиртовом брожении расходуется 2 моль P_i на 1 моль глюкозы. б) Этанол — это восстановленный продукт, образующийся в процессе обратного окисления $NADH$ до NAD^+ , а CO_2 — побочный продукт превращения пирувата в этанол. Пируват должен превращаться в этанол, чтобы обеспечивать непрерывный источник NAD^+ для окисления глицеральдегид-3-фосфата. Накапливается фруктозо-1,6-бисфосфат, образующийся в качестве промежуточного продукта гликолиза. в) Арсенат вытесняет P_i в реакции глицеральдегид-3-фосфатдегидрогеназы, в результате чего образуется ациларсенат, подвергающийся далее спонтанному гидролизу. Это препятствует образованию АТР, но метаболизм 3-фосфоглицерата продолжается.

16. Ниацин из пищи используется для синтеза NAD^+ . Осуществляемые под действием NAD^+ окислительные реакции являются частью циклического процесса, в которых NAD^+ выступает в роли переносчика электронов (восстановительного агента). Одна молекула NAD^+ может окислить несколько тысяч молекул глюкозы, поэтому потребность в витамине-предшественнике (ниацине) сравнительно невысокая.

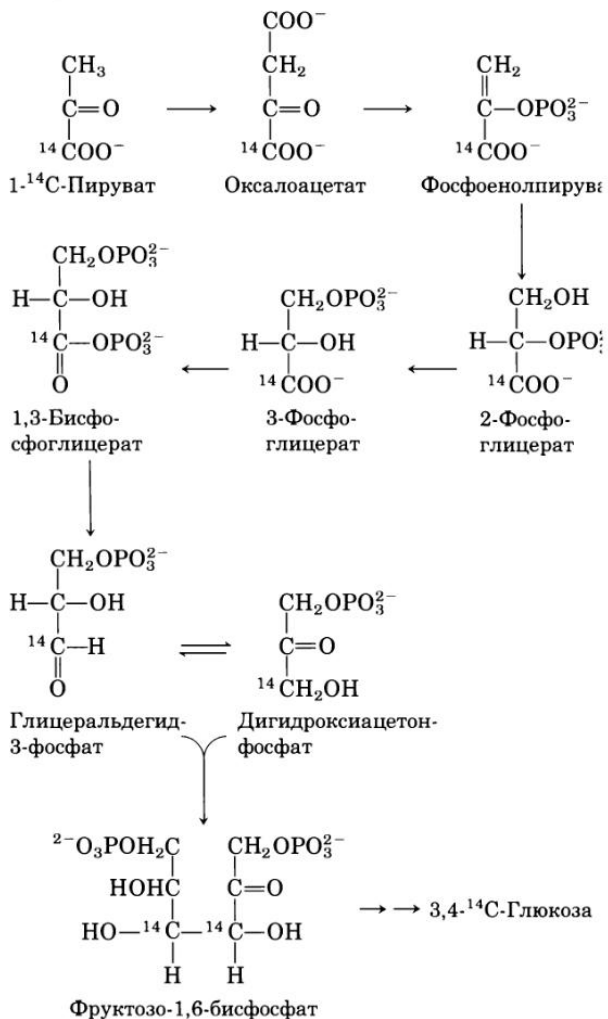
17. Дигидроксиацетонфосфат + $NADH + H^+ \rightarrow$ 3-глицерофосфат + NAD^+ (катализатор — дегидрогеназа).

18. Недостаточность галактокиназы: галактоза (менее токсична); недостаточность галактозо-1-фосфат-уридилтрансферазы: галактозо-1-фосфат (более токсичен).

19. Белки расщепляются до аминокислот, которые используются в глюконеогенезе.

20. а) В реакции пируваткарбоксилазы к пирувату присоединяется $^{14}CO_2$, но на следующей стадии ФЕП-карбоксикиназа перемещает *тот же* CO_2 . Таким образом, сначала ^{14}C в глюкозу не включается.

б)



21. Четыре эквивалента АТР на молекулу глюкозы.

22. Если бы это было так, глюконеогенез был бы очень высокоэндергоническим процессом и исчезла возможность независимой регуляции гликолиза и глюконеогенеза.

23. Для превращения пирувата в фосфоенолпируват клетка затрачивает 1 молекулу АТР и 1 молекулу GTP.

24. (а), (б) и (г) — глюкогенные, (в) и (д) — нет.

25. Потребление алкоголя усиливает конкуренцию за NAD^+ при метаболизме этанола и глюконеогенезе. Ситуация усугубляется активной физической нагрузкой и отсутствием достаточного питания, поскольку они также способствуют понижению уровня глюкозы крови.

26. а) Быстрое усиление гликолиза; повышение уровня пирувата и $NADH$ приводит к повышению

уровня лактата. **б)** Лактат превращается в глюкозу через стадию образования пирувата. Это медленный процесс, поскольку скорость образования пирувата ограничена доступностью NAD^+ , равновесие ЛДГ-реакции сдвинуто в сторону образования лактата, а превращение пирувата в глюкозу требует энергетических затрат. **в)** Равновесие реакции, катализируемой ЛДГ, сдвинуто в сторону образования лактата.

- 27.** В печени лактат превращается в глюкозу в результате глюконеогенеза (рис. 14-15 и 14-16, т. 2). Дефект фруктозо-1,6-бисфосфатазы в гепатоцитах препятствует включению лактата в глюконеогенез, в результате чего лактат накапливается в крови.
- 28.** Сукцинат превращается в оксалоацетат, который транспортируется в цитозоль и превращается в фосфоенолпируват под действием ФЕП-карбоксикиназы. В соответствии с реакцией, изображенной на рис. 14-16 (т. 2), для образования 1 моль глюкозы требуется 2 моль ФЕП.
- 29.** Одновременное функционирование анаболических и катаболических путей метаболизма глюкозы приводит к холостому циклу АТР, сопровождающемуся дополнительным потреблением O_2 .
- 30.** Накопление рибозо-5-фосфата, как минимум, приводило бы к обращению направления реакции в соответствии с законом действующих масс (уравнение 13-4, т. 2). Кроме того, это могло бы повлиять и на другие метаболические реакции с участием рибозо-5-фосфата в качестве субстрата или продукта, например на реакции синтеза нуклеотидов.

- 31. а)** Устойчивость к этанолу, скорее всего, связана еще со многими другими генами, поэтому такой путь был бы значительно более сложным.

б) L-Арабиноизомераза (ген *araA*) превращает альдозу в кетозу путем перемещения карбонильной группы в нефосфорилированном сахаре от атома С1 на атом С2. Подобные ферменты в данной главе не упоминались; все обсуждавшиеся ранее ферменты действуют на фосфорилированные сахара. Фермент, осуществляющий аналогичные превращения фосфорилированного фермента, называется фосфогексоизомеразой. L-Рибулокиназа (*araB*) фосфорилирует сахар по атому С5, перенося γ -фосфорильную группу от АТР. В данной главе описано несколько подобных реакций, включая реакцию гексокиназы. L-Рибулозо-5-фосфат-эпимераза (*araD*) перемещает Н- и ОН-группы у хирального атома сахара. В данной главе аналогичные реакции не были описаны, но будут обсуждаться в гл. 20 (см. рис. 20-1, т. 2). **в)** Продукты трех генов *ara* пре-

вращали арабинозу в ксилулозо-5-фосфат в соответствии со следующей последовательностью реакций: арабиноза (L-арабиноизомераза) $\rightarrow$ L-рибулоза (L-рибулокиназа) $\rightarrow$ L-рибулозо-5-фосфат (эпимераза) $\rightarrow$ ксилулозо-5-фосфат. **г)** Арабиноза превращается в ксилулозо-5-фосфат, как описано в (в), который включается в метаболический путь, изображенный на рис. 14-22; образующийся глюкозо-6-фосфат далее ферментируется до CO_2 и этилового спирта. **д)** 6 молекул арабинозы + 6 молекул АТР превращаются в 6 молекул ксилулозо-5-фосфата, который включается в путь, изображенный на рис. 14-22 (т. 2), и превращается в 5 молекул глюкозо-6-фосфата, каждая из которых подвергается ферментации с образованием 3 молекул АТР — всего 15 молекул АТР. Таким образом, суммарный выход составляет 15 АТР — 6 АТР = 9 АТР из 6 молекул арабинозы. Кроме того, в результате процесса образуются 10 молекул этанола и 10 молекул CO_2 . **е)** С учетом более низкого выхода АТР, для такого же роста в пересчете на эквиваленты АТР бактерия *Z. mobilis* должна ферментировать больше арабинозы и, следовательно, производить больше спирта. **ж)** Один из способов, который заставил бы бактерию утилизировать ксилузу, заключается во введении двух дополнительных генов: аналога гена *araD*, продукт которого превращает ксилузу в рибозу, переставляя Н- и ОН-группы у атома С3, и аналога гена *araB*, продукт которого фосфорилирует рибозу по атому С5. Образующийся рибозо-5-фосфат может включаться в существующий метаболический путь.

Глава 15

- 1. а)** 0,0293; **б)** 308; **в)** Нет. $Q \gg K'_{\text{eq}}$, и это означает, что в клетках реакция ПФК-1 далека от равновесия. Эта реакция протекает медленнее, чем следующие реакции гликолиза. Поток метаболитов по пути гликолиза в значительной степени определяется активностью ПФК-1.
- 2. а)** $1,4 \cdot 10^{-9}$ М; **б)** Физиологическая концентрация (0,023 мМ) в 16 000 раз выше равновесной концентрации. Данная реакция в клетках не достигает равновесия. Многие реакции в клетках далеки от равновесия.
- 3.** Когда нет кислорода, потребности в АТР удовлетворяются путем анаэробного метаболизма глюкозы (ферментации до лактата). Поскольку при аэробном окислении глюкозы образуется намного больше АТР, чем при брожении, для образования того же количества АТР требуется меньше глюкозы.

4. а) Фермент имеет два центра связывания АТФ — активный и регуляторный. Связывание АТФ в регуляторном центре ингибирует PFK-1, снижая $V_{\max}$ или повышая K_M для связывания АТФ в активном центре. б) В условиях избытка АТФ поток метаболитов по пути гликолиза замедляется. в) График показывает, что повышение концентрации АДФ подавляет ингибирование под действием АТФ. Поскольку пул адениновых нуклеотидов почти постоянен, потребление АТФ вызывает повышение концентрации АДФ. Данные показывают, что активность PFK-1 может регулироваться соотношением $[ATP]/[ADP]$.

5. При pH 7,0 фосфатная группа глюкозо-6-фосфата полностью ионизирована, в результате чего молекула в целом приобретает отрицательный заряд. Поскольку мембраны обычно непроницаемы для заряженных молекул, глюкозо-6-фосфат не может проходить из крови в клетки и, следовательно, не может включаться в гликолиз и использоваться для синтеза АТФ. (По этой же причине фосфорилированная глюкоза не может выйти из клетки.)

6. а) В мышцах: распад гликогена в процессе гликолиза поставляет клеткам энергию (в форме АТФ). Гликогенфосфорилаза катализирует превращение запасенного гликогена в глюкозо-1-фосфат, который превращается в промежуточный продукт гликолиза глюкозо-6-фосфат. При активной физической нагрузке скелетным мышцам требуется больше глюкозо-6-фосфата. В печени: распад гликогена поддерживает постоянный уровень глюкозы крови между приемами пищи (глюкозо-6-фосфат превращается в свободную глюкозу). б) В активно работающих мышцах потребность в АТФ очень высока, так что глюкозо-1-фосфат должен образовываться быстро, чем и объясняется большое значение $V_{\max}$.

7. а) $[P_i]/[\text{глюкозо-1-фосфат}] = 3,3/1$; б) и в) Величина этого отношения в клетке ($> 100 : 1$) указывает, что концентрация глюкозо-1-фосфата намного ниже равновесного значения. Скорость удаления глюкозо-1-фосфата (путем включения в гликолиз) выше скорости его образования (в реакции гликогенфосфорилазы), так что поток метаболитов направлен от гликогена к образованию глюкозо-1-фосфата. Реакция гликогенфосфорилазы, вероятно, является регуляторной стадией в процессе расщепления гликогена.

8. а) Повысится; б) понизится; в) повысится

9. В покое: $[ATP]$ — высокая; $[AMP]$ — низкая; $[\text{ацетил-CoA}]$ и $[\text{цитрат}]$ — промежуточная. При бегстве: $[ATP]$ — промежуточная; $[AMP]$ — вы-

сокая; $[\text{ацетил-CoA}]$ и $[\text{цитрат}]$ — низкая. Во время спринта при анаэробном гликолизе поток глюкозы усиливается по следующим причинам: (1) ингибирование гликогенфосфорилазы и PFK-1 под действием АТФ частично снимается; (2) АМР стимулирует оба фермента; (3) при снижении концентрации цитрата и ацетил-CoA ослабляется их ингибирующее действие по отношению к PFK-1 и пируваткиназе соответственно.

10. Перелетные птицы эффективно используют анаэробное окисление жиров (в отличие от бегущего кролика, использующего анаэробный метаболизм глюкозы). Птицы берегут мышечный гликоген для экстренных случаев, когда внезапно может потребоваться значительный расход энергии.

11. Случай 1: е, 3; случай 2: в, 3; случай 3: 3, 4; случай 4: г, 6.

12. а) (1) Жировая ткань: синтез жирных кислот замедляется. (2) Мышцы: гликолиз, синтез жирных кислот и синтез гликогена замедляются. (3) Печень: гликолиз ускоряется, глюконеогенез, синтез гликогена и синтез жирных кислот замедляются; пентозофосфатный цикл происходит без изменений. б) (1) Жировая ткань и (3) печень: синтез жирных кислот замедляется, поскольку недостаток инсулина приводит к инактивации ацетил-CoA-карбоксилазы, первого фермента на пути синтеза жирных кислот. Синтез гликогена ингибируется сАМР-зависимым фосфорилированием гликогенсинтазы. (2) Мышцы: гликолиз замедляется, поскольку GLUT4 неактивен, что делает невозможным захват глюкозы. (3) Печень: гликолиз замедляется, поскольку бифункциональная PFK-2/FBPаз-2 переходит в форму с активной FBPазой-2, в результате чего снижается концентрация фруктозо-2,6-бисфосфата — аллостерического активатора фосфофруктокиназы и ингибитора FBPазы-1. Это также вносит вклад в стимуляцию глюконеогенеза.

13. а) Повышенный; б) повышенный; в) повышенный.

14. а) РКА не может активироваться в ответ на сигнал глюкагона или адреналина, и гликогенфосфорилаза остается неактивной. б) PP1 остается активной и дефосфорилирует гликогенсинтазу (тем самым активируя ее) и гликогенфосфорилазу (тем самым ингибируя ее). в) Фосфорилаза остается фосфорилированной (активной), усиливая расщепление гликогена. г) Глюконеогенез не стимулируется при низком уровне глюкозы крови, так что при голодании уровень глюкозы крови падает до опасно низкой величины.

15. Падение концентрации глюкозы в крови вызывает высвобождение глюкагона поджелудочной желе-

зой. В печени глюкагон активирует гликогенфосфорилазу через стимуляцию ее сАМР-зависимого фосфорилирования и стимулирует глюконеогенез путем снижения концентрации фруктозо-2,6-бисфосфата, таким образом стимулируя ФВРазу-1.

- 16. а)** Снижение способности мобилизовать гликоген; снижение уровня глюкозы крови между приемами пищи. **б)** Снижение способности организма понижать уровень глюкозы крови после употребления в пищу углеводов; повышение уровня глюкозы крови. **в)** Снижение концентрации фруктозо-2,6-бисфосфата в печени, стимуляция гликолиза и ингибирование глюконеогенеза. **г)** Снижение концентрации фруктозо-2,6-бисфосфата, стимуляция глюконеогенеза и ингибирование гликолиза. **д)** Усиление захвата жирных кислот и глюкозы и усиленное окисление этих веществ. **е)** Активизация превращения пирувата в ацетил-СоА и ускорение синтеза жирных кислот.

- 17. а)** Учитывая, что каждая частица гликогена содержит около 55 000 остатков глюкозы, эквивалентная концентрация глюкозы составляет

$$55\,000 \cdot 0,01 \text{ мкМ} = 550 \text{ мМ} (0,55 \text{ М}).$$

При такой концентрации растворенного вещества в клетке было бы очень высокое осмотическое давление (жидкости тела характеризуются намного более низкой осмолярностью). **б)** Чем меньше разветвлений, тем меньше у полимера свободных концов, доступных для действия гликогенфосфорилазы, и тем ниже скорость высвобождения глюкозы. Если полимер линейный (не имеет разветвлений), фосфорилаза может действовать всего лишь в одном положении. **в)** На внешней поверхности частицы так много остатков глюкозы, что ферменту трудно подойти к расщепляемой связи. **г)** В каждом следующем ряду число цепей удваивается: ряд 1 содержит одну цепь ($2^0 = 1$), ряд 2 — две ($2^1 = 2$), ряд 3 — четыре ($2^2 = 4$) и т. д. Таким образом, в случае ряда t число цепей C_A в самом верхнем ряду 2^{t-1} . **д)** Общее число цепей $2^0 + 2^1 + 2^2 + \dots + 2^{t-1} = 2^t - 1$. Каждая цепь содержит g_c звеньев глюкозы, так что общее число C_T звеньев глюкозы $g_c(2^t - 1)$. **е)** Из цепи длиной g_c гликогенфосфорилаза может высвободить все остатки глюкозы, кроме четырех. Таким образом, из каждой цепи верхнего ряда фермент может высвободить $(g_c - 4)$ остатков глюкозы. Поскольку в верхнем ряду имеется 2^{t-1} цепей, число молекул глюкозы G_{PT} , которые может высвободить фермент, $(g_c - 4)2^{t-1}$. **ж)** Объем сферы равен $\frac{4}{3}\pi r^3$, где r — это толщина одного ряда, умноженная на число рядов, т. е. $(0,12g_c + 0,35)t$ нм. Таким образом, $V_s = \frac{4}{3}\pi t^3(0,12g_c + 0,35)^3 \text{ нм}^3$. **з)** Алгебраическим путем можно показать, что значение g_c , при котором

достигается максимальное значение f , не зависит от t . Пусть $t = 3$:

g_c	C_A	C_T	G_{PT}	V_s	f
5	4	35	4	11	5,8
6	4	42	8	19	9,7
7	4	49	12	24	12
8	4	56	16	28	14
9	4	63	20	32	15
10	4	70	24	34	16
11	4	77	28	36	16
12	4	84	32	38	17
13	4	91	36	40	17
14	4	98	40	41	17
15	4	100	44	42	16
16	4	110	48	43	16

Оптимальное значение g_c (соответствующее максимуму f) равно 13. В природе значение g_c варьирует от 12 до 14, что соответствует значениям f , которые очень близки к оптимуму. Если выбрать другое значение t , значения будут отличаться, но оптимальным по-прежнему останется $g_c = 13$.

Глава 16

1. а) ① Цитратсинтаза:

ацетил-СоА + оксалоацетат + $H_2O \rightarrow$ цитрат + СоА

② Аконитаза:

цитрат $\rightarrow$ изоцитрат

③ Изоцитратдегидрогеназа:

изоцитрат + $NAD^+ \rightarrow$ α -кетоглутарат + CO_2 + $NADH$

④ α -Кетоглутаратдегидрогеназа:

α -кетоглутарат + NAD^+ + СоА $\rightarrow$

$\rightarrow$ сукцинил-СоА + CO_2 + $NADH$

⑤ Сукцинил-СоА-синтетаза:

сукцинил-СоА + P_i + $GDP \rightarrow$ сукцинат + СоА + GTP

⑥ Сукцинатдегидрогеназа:

сукцинат + $FAD \rightarrow$ фумарат + $FADH_2$

⑦ Фумараза:

фумарат + $H_2O \rightarrow$ малат

⑧ Малатдегидрогеназа:

малат + $NAD^+ \rightarrow$ оксалоацетат + $NADH$ + H^+

б), в) ① СоА, конденсация; ② отсутствует, изомеризация; ③ NAD^+ , окислительное декарбоксилирование; ④ NAD^+ , СоА и тиаминпирофосфат, окислительное декарбоксилирование; ⑤ СоА, субстратное фосфорилирование; ⑥ FAD , окисление; ⑦ отсутствует, гидратация; ⑧ NAD^+ , окисление

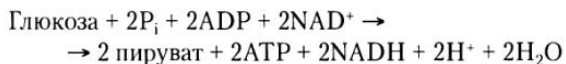
г) $\text{Ацетил-СоА} + 3\text{NAD}^+ + \text{FAD} + \text{GDP} + \text{P}_i + 2\text{H}_2\text{O} \rightarrow 2\text{CO}_2 + \text{СоА} + 3\text{NADH} + \text{FADH}_2 + \text{GTP} + 2\text{H}^+$

2. Глюкоза + 4ADP + 4P_i + 10NAD⁺ + 2FAD →
→ 4ATP + 10NADH + 2FADH₂ + 6CO₂
3. а) Окисление; метанол → формальдегид + [H-H]
б) Окисление; формальдегид → формиат + [H-H]
в) Восстановление; CO₂ + [H-H] → формиат + H⁺
г) Восстановление; глицерат + H⁺ + [H-H] →
→ глицеральдегид + H₂O
д) Окисление; глицерин → дигидроксиацетон + [H-H]
е) Окисление; 2H₂O + толуол → бензоат + H⁺ + 3[H-H]
ж) Окисление; сукцинат → фумарат + [H-H]
з) Окисление; пируват + H₂O → ацетат + CO₂ + [H-H]
4. Из структурных формул видно, что соотношение связанного с углеродом водорода к углероду (H/C) выше для гексановой кислоты (11/6), чем для глюкозы (7/6). Это означает, что гексановая кислота — более восстановленное соединение и ее полное окисление до CO₂ и H₂O сопровождается выделением большего количества энергии.
5. а) Окислился; этанол + NAD⁺ →
→ ацетальдегид + NADH + H⁺
б) Восстановился;
1,3-бисфосфоглицерат + NADH + H⁺ →
глицеральдегид-3-фосфат + NAD⁺ + HPO₄²⁻
в) Не изменил степени окисления; пируват + H⁺ →
→ ацетальдегид + CO₂
г) Окислился; пируват + NAD⁺ →
→ ацетат + CO₂ + NADH + H⁺
д) Восстановился; оксалоацетат + NADH + H⁺ →
→ малат + NAD⁺
е) Не изменил степени окисления;
ацетоацетат + H⁺ → ацетон + CO₂
6. TPP: тиазольное кольцо присоединяется к α-углероду пирувата и стабилизирует образующийся карбанион, выступая в роли ловушки электронов. *Липоевая кислота*: окисляет пируват до состояния окисления ацетата (ацетил-CoA) и активирует ацетат (тиоэфир). *CoA-SH*: активирует ацетат (тиоэфир). *FAD*: окисляет липоевую кислоту. *NAD⁺*: окисляет FAD.
7. Отсутствие TPP ингибирует пируватдегидрогеназу; накапливается пируват.
8. Окислительное декарбоксилирование; NAD⁺ или NADP⁺; α-кетоглутаратдегидрогеназа
9. Потребление кислорода является мерой активности двух первых стадий клеточного дыхания — гликолиза и цикла лимонной кислоты. Добавление оксалоацетата или малата стимулирует цикл лимонной кислоты и, следовательно, способствует дыханию. Оксалоацетат или малат выполняет каталитическую функцию, поскольку регенерируется на последующих стадиях цикла лимонной кислоты.
10. а) 5,6 · 10⁻⁶; б) 1,1 · 10⁻⁸ М; в) 28 молекул
11. Нужно добавить ADP (или GDP), P_i, CoA-SH, TPP, NAD⁺, но не липоевую кислоту, которая ковалентно связана с использующими ее ферментами.
12. Не могут синтезироваться флавиновые нуклеотиды FMN и FAD. Поскольку FAD участвует в цикле лимонной кислоты, недостаточность флавинов сильно ингибирует цикл.
13. Оксалоацетат может направляться на синтез аспартата или включаться в глюконеогенез. Запас оксалоацетата пополняется в анаплеротических реакциях, катализируемых ФЕП-карбоксикиназой, ФЕП-карбоксилазой, яблочным ферментом или пируваткарбоксилазой (см. рис. 16-15, т. 2).
14. Концевая фосфорильная группа GTP может быть перенесена на ADP в реакции, катализируемой нуклеозиддифосфаткиназой с константой равновесия 1,0: GTP + ADP → GDP + ATP
15. а) OOC-CH₂-CH₂-COO (сукцинат). б) Малонат — конкурентный ингибитор сукцинатдегидрогеназы. в) Остановка цикла лимонной кислоты приводит к прекращению образования NADH и переноса электронов и далее к остановке дыхания. г) Большой избыток сукцината (субстрата) позволяет преодолеть конкурентное ингибирование.
16. а) Добавить равномерно меченную [¹⁴C]глюкозу и следить за выделением ¹⁴CO₂. б) Равномерно распределится между атомами C2 и C3 оксалоацетата; бесконечное число циклов.
17. Оксалоацетат находится в равновесии с сукцинатом, в котором атомы C1 и C4 эквивалентны. Оксалоацетат, полученный из сукцината, содержит метку в атомах C1 и C4, а полученный из него ФЕП содержит метку в атоме C1, откуда метка попадает в атомы C3 и C4 в молекуле глюкозы.
18. а) C1; б) C3; в) C3; г) C2 (метильная группа); д) C4; е) C4; ж) равномерно распределена между C2 и C3.
19. Тиамин нужен для синтеза TPP, который выступает в роли протетической группы в пируватдегидрогеназном и α-кетоглутаратдегидрогеназном комплексах. Недостаточность тиамина снижает активность этих ферментных комплексов и вызывает наблюдающееся накопление метаболитов.
20. Нет. Вхождение в цикл каждого двух атомов в виде ацетата сопровождается удалением двух атомов в виде CO₂; поэтому суммарного приращения количества оксалоацетата не происходит. Приток оксалоацетата достигается в анаплеротической реакции карбоксилирования пирувата.

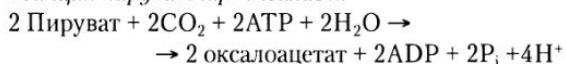
21. Да, это приведет к ингибированию цикла лимонной кислоты. Оксалоацетат содержится в митохондриях в достаточно низкой концентрации, поэтому его удаление по пути глюконеогенеза сдвинет равновесие реакции цитратсинтазы в сторону образования оксалоацетата.

22. а) Ингибирование аконитазы; б) фторцитрат; конкурирует с цитратом; большим избытком цитрата. в) Цитрат и фторцитрат ингибируют PFK-1. г) Отключаются все катаболические процессы, необходимые для производства АТФ.

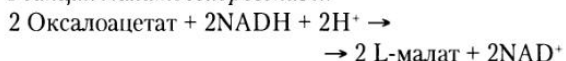
23. Гликолиз:



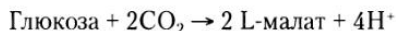
Реакция пируваткарбоксилазы:



Реакция малатдегидрогеназы:

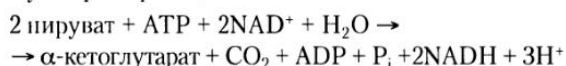


Так происходит рецикл никотинамидных кофакторов в анаэробных условиях. Суммарную реакцию можно записать следующим образом:



Итак, превращение каждой молекулы глюкозы сопровождается выделением 4 ионов H^+ ; в результате повышается кислотность и терпкость вина.

24. Суммарная реакция:

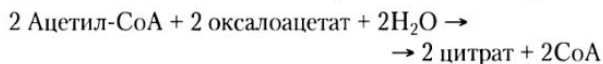
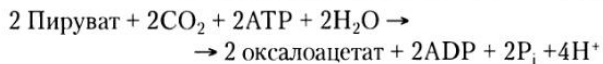
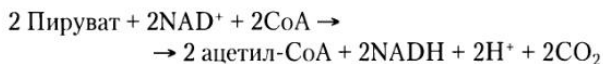
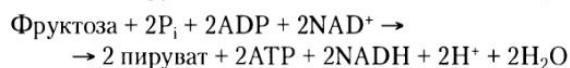
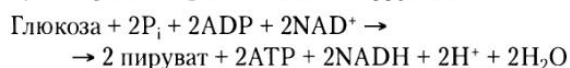


25. Цикл вовлечен и в катаболические, и в анаболические процессы. Например, в результате окисления субстрата в цикле выделяется АТФ, но также образуются предшественники для синтеза аминокислот (см. рис. 16-15, с. 203).

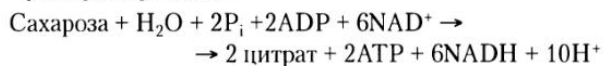
26. а) Снижает; б) повышает; в) снижает.

27. а) Цитрат образуется из оксалоацетата и ацетил-СоА под действием цитратсинтазы. Цитратсинтаза может обеспечивать суммарный прирост цитрата при следующих условиях: (1) при постоянном притоке оксалоацетата и ацетил-СоА и (2) при ограничении синтеза изоцитрата, как в среде с низким содержанием Fe^{3+} . Ионы Fe^{3+} нужны для проявления активности аконитазы, поэтому в среде с низким содержанием Fe^{3+} ее активность низкая.

б) Сахароза + $\text{H}_2\text{O} \rightarrow$ глюкоза + фруктоза



Суммарная реакция:



в) В суммарной реакции расходуется NAD^+ . Поскольку запасы этого окисленного кофермента в клетке ограничены, необходим его рецикл в электронтранспортной цепи, сопровождающийся потреблением O_2 . Итак, превращение сахарозы в цитрат — аэробный процесс, требующий участия молекулярного кислорода.

28. Сукцинил-СоА — промежуточное соединение в цикле лимонной кислоты; его накопление свидетельствует о замедлении потока метаболитов в цикле, требующем сокращения поступления в цикл ацетил-СоА. Цитратсинтаза, регулирующая в клетке очень важный окислительный путь, контролирует наличие NADH и, следовательно, поток электронов от NADH на O_2 .

29. Катаболизм жирных кислот сопровождается увеличением концентрации ацетил-СоА, который стимулирует пируваткарбоксилазу. Происходящий в результате рост концентрации оксалоацетата стимулирует расход ацетил-СоА в цикле лимонной кислоты, что приводит к росту концентрации цитрата и ингибированию гликолиза на уровне PFK-1. Кроме того, повышенные концентрации ацетил-СоА ингибируют пируватдегидрогеназный комплекс, замедляя использование пирувата из гликолиза.

30. Кислород нужен для получения NAD^+ из NADH , образовавшегося в реакциях цикла лимонной кислоты. Окисление NADH происходит в реакциях окислительного фосфорилирования в митохондриях.

31. В соответствии с законом действующих масс при увеличении отношения $[\text{NADH}]/[\text{NAD}^+]$ цикл лимонной кислоты замедляется на трех стадиях, сопровождающихся восстановлением NAD^+ . При высокой концентрации NADH равновесие смещается в сторону образования NAD^+ .

32. Реакция направлена в сторону образования цитрата; в этих условиях ΔG реакции цитратсинтазы составляет примерно -8 кДж/моль .

33. Стадии ④ и ⑤ необходимы для реокисления липоамидного кофактора.

34. Цикл лимонной кислоты играет настолько важную роль в метаболизме, что серьезные дефекты любого фермента цикла летальны для эмбриона.

35. Первый фермент каждого пути находится под двойным аллостерическим контролем. Ингибирование одного пути направляет изоцитрат по другому пути.
36. а) Единственной реакцией в мышечной ткани, происходящей со значительным потреблением кислорода, является клеточное дыхание, поэтому по потреблению O_2 хорошо оценивать активность дыхания. б) В свежеприготовленной мышечной ткани присутствует остаточное количество глюкозы; потребление O_2 связано с окислением этой глюкозы. в) Да. Поскольку количество потребленного O_2 возрастает при добавлении цитрата или 1-глицерофосфата, в данной системе оба могут служить субстратами в клеточном дыхании. г) *Эксперимент I*: в присутствии цитрата затрачивается намного больше кислорода, чем должно быть использовано на его полное окисление. Единственным объяснением может быть то, что каждая молекула цитрата вступает в реакцию более одного раза, т. е. ведет себя так, как катализатор. *Эксперимент II*: ответ заключается в расчете дополнительного O_2 , использованного каждым образцом по сравнению с контролем (образец 1).

Образец	Дополнительный субстрат	Потребление O_2 , мкл	Избыток потребления O_2 , мкл
1	нет	342	0
2	0,3 мл 0,2 М 1-глицерофосфата	757	415
3	0,15 мл 0,02 М цитрата	431	89
4	0,3 мл 0,2 М 1-глицерофосфата + 0,15 мл 0,02 М цитрата	1385	1043

Если бы цитрат и 1-глицерофосфат были просто субстратами, дополнительное количество поглощенного кислорода в образце 4 было бы суммой соответствующих показателей в образцах 2 и 3 ($415 + 89 = 504$). Однако мы наблюдаем двукратное превышение этой величины. Таким образом, цитрат повышает способность ткани метаболизировать 1-глицерофосфат. Это типичное поведение катализатора. Для подтверждения этого вывода необходимы результаты обоих экспериментов (I и II). Из результатов эксперимента I видно, что цитрат ускоряет реакцию, но невозможно понять, способствует ли он метаболизму субстрата или действует по другому механизму. Из результатов эксперимента II невозможно установить, какое из

веществ катализатор — цитрат или 1-глицерофосфат. Два эксперимента вместе позволяют твердо сказать, что цитрат выступает в роли катализатора в процессе окисления 1-глицерофосфата. д) Поскольку в данном процессе происходит расходование цитрата (образец 3), действующего в качестве катализатора, на каком-то этапе он должен регенерировать. Если в последовательности реакций цитрат сначала расходуется, а потом регенерируется, последовательность реакций не линейная, а циклическая. е) Если процесс останавливается на α -кетоглутаратдегидрогеназной реакции, цитрат превращается в α -кетоглутарат, но не претерпевает дальнейших превращений. Кислород расходуется на реокисление NADH, образовавшегося в реакции изоцитратдегидрогеназы.

ж)



Этот рисунок отличается от рис. 16-7 тем, что здесь отсутствуют *цис*-аконитат и изоцитрат (между цитратом и α -кетоглутаратом), а также сукцинил-СоА и ацетил-СоА. з) Количественный анализ позволяет исключить разветвленную или другую более сложную схему процесса.

Глава 17

- В составе жирной кислоты; атомы углерода в жирной кислоте восстановлены сильнее, чем в глицерине.
- а) $4.0 \cdot 10^5$ кДж ($9.6 \cdot 10^4$ ккал); б) 48 сут.; в) 0.48 фунтов/сут.
- Первая стадия цикла окисления жирных кислот аналогична реакции превращения сукцината в фумарат, вторая стадия — реакции превращения фумарата в малат, а третья — реакции превращения малата в оксалоацетат.
- Семь циклов; в последнем образуются 2 молекулы ацетил-СоА.
- а) $R-COO^- + ATP \rightarrow$ ацил-AMP + PP_i
 $ацил-AMP + CoA \rightarrow$ ацил-СоА + AMP.
 б) Необратимый гидролиз PP_i до $2P_i$, осуществляемый в клетке неорганической пирофосфатазой.

6. *цис*- Δ^3 -Додеканойл-СоА; он конвертируется в *цис*- Δ^2 -додеканойл-СоА, а затем в β -гидроксидодеканойл-СоА.
7. 4 ацетил-СоА и 1 пропионил-СоА.
8. Да. Часть трития удаляется из пальмитата в реакциях дегидрирования в процессе β -окисления. Удаленный тритий обнаруживается в тритированной воде.
9. В цитозоле активированные (соединенные с СоА) жирные кислоты сначала переносятся на карнитин, в результате чего высвобождается СоА, а затем транспортируются в митохондрии, где вновь вступают во взаимодействие с СоА. Таким образом, цитозольный и митохондриальный пулы СоА содержатся отдельно, поэтому радиоактивный СоА из цитозоля не проникает в митохондрии.
10. а) У голубей преобладает β -окисление, а у фазанов — анаэробный гликолиз гликогена. б) Мышцы голубя потребляют больше O_2 . в) Жиры содержат больше энергии в пересчете на 1 г вещества, чем гликоген. Кроме того, анаэробное расщепление гликогена ограничено толерантностью тканей к лактату. Поэтому голубь, использующий при полете окислительный катаболизм жиров, летает на значительно более длинные расстояния. г) Эти ферменты являются регуляторными ферментами в соответствующих метаболических путях и, следовательно, ограничивают скорость образования АТФ.
11. Малонил-СоА больше не ингибирует транспорт жирных кислот в митохондрии и β -окисление, поэтому может возникнуть холостой цикл, в котором одновременно происходит синтез жирных кислот в цитозоле и их распад в митохондриях.
12. а) Транспорт жирных кислот в митохондрии, опосредованный карнитином, определяет скорость всего процесса окисления жирных кислот. Недостаточность карнитина приводит к замедлению окисления жирных кислот, а добавление карнитина повышает скорость окисления. б) Все эти факторы усиливают необходимость окисления жирных кислот. в) Недостаточность карнитина может быть следствием недостаточности его предшественника, лизина, или дефектом одного из ферментов, участвующих в биосинтезе карнитина.
13. При окислении жиров выделяется метаболическая вода; 1,4 л воды на 1 кг трипальмитойлглицерина (небольшой вклад глицерина не учитываем).
14. Бактерии можно использовать для полного окисления углеводов до CO_2 и H_2O . Однако трудно обеспечить хороший контакт между углеводородами и бактериальными ферментами. Кроме того, может не хватать таких необходимых бактериям элементов, как азот и фосфор, что может ограничивать их рост.
15. а) M_r 136; фенилуксусная кислота; б) четное
16. Митохондриальный пул СоА не столь большой, поэтому СоА нужно извлекать из ацетил-СоА в процессе образования кетонных тел. Это позволяет осуществлять β -окисление, необходимое для получения энергии.
17. а) В процессе гликолиза из глюкозы образуется пируват, а пируват является основным источником оксалоацетата. При отсутствии глюкозы в рационе питания концентрация оксалоацетата падает, и цикл трикарбоновых кислот замедляется. б) С нечетным числом атомов; при превращении пропионата в сукцинил-СоА образуются промежуточные продукты цикла лимонной кислоты и четырехуглеродные предшественники для глюконеогенеза.
18. В случае гептановой кислоты, состоящей из нечетного числа атомов углерода, β -окисление приводит к образованию пропионил-СоА, который за несколько стадий может превращаться в оксалоацетат — исходное соединение для глюконеогенеза. Жирные кислоты с четным числом атомов углерода не могут служить источником исходных соединений для глюконеогенеза, поскольку полностью окисляются до ацетил-СоА.
19. При β -окислении ω -фторолеата образуется фтор-ацетил-СоА, который включается в цикл лимонной кислоты и превращается в фторцитрат, мощный ингибитор аконитазы. Ингибирование аконитазы останавливает цикл. Отсутствие восстанавливающих эквивалентов из цикла лимонной кислоты делает невозможным окислительное фосфорилирование (синтез АТФ).
20. Замена Ser на Ala блокирует β -окисление в митохондриях. Замена Ser на Asp блокирует синтез жирных кислот и стимулирует β -окисление.
21. Реакция на глюкагон или адреналин стала бы более длительной, что способствовало бы усилению мобилизации жирных кислот в адипоцитах.
22. Комплекс $Enz-FAD$, имеющий более положительный стандартный восстановительный потенциал, является лучшим акцептором электронов, чем NAD^+ , и реакция направлена в сторону окисления ацил-СоА. За это более благоприятное равновесие приходится расплачиваться 1 молекулой АТФ: лишь 1,5 молекулы АТФ образуется в расчете на молекулу $FADH_2$, окисленную в дыхательной цепи, в отличие от 2,5 молекул АТФ на молекулу $NADH$.

23. Девять циклов; арахидоновая кислота (насыщенная кислота, состоящая из 20 атомов углерода) превращается в 10 молекул ацетил-СoА, из которых две образуются в девятом цикле.
24. См. рис. 17-11. Образуется $[3-^{14}\text{C}]$ сукцинил-СoА, из которого затем получается меченный по атомам С2 и С3 оксалоацетат.
25. Фитановая кислота $\rightarrow$ пристановая кислота $\rightarrow$ пропионил-СoА $\rightarrow$ сукцинил-СoА $\rightarrow$ сукцинат $\rightarrow$ фумарат $\rightarrow$ малат. Все атомы углерода в малате содержат метку, но в атомах С1 и С4 ее в 2 раза меньше, чем в С2 и С3.
26. В клеточных реакциях, требующих расхода энергии, гидролиз АТФ происходит с участием воды: $\text{АТФ} + \text{H}_2\text{O} \rightarrow \text{АДП} + \text{P}_i$. В суммарной реакции H_2O нет.
27. Метилмалонил-СoА-мутаза нуждается в кобальт-содержащем кофакторе, образующемся из витамина B_{12} .
28. Потеря массы за сутки составляет около 0,66 кг, или 140 кг за 7 месяцев. Кетоза можно избежать путем деградации неэссенциальных белков в глюконеогенез.
29. а) Жирные кислоты превращаются в СoА-производные под действием ферментов цитоплазмы, а затем ацил-СoА переносятся в митохондрии для окисления. Поскольку в эксперименте использовались изолированные митохондрии, в нем расходовались производные СoА. б) Стеарил-СoА быстро превращается в 9 молекул ацетил-СoА в процессе β -окисления. Все промежуточные соединения претерпевают быстрые превращения, поэтому детектировать их практически не удастся. в) Два цикла. В каждом цикле удаляются два атома углерода, поэтому через два цикла 18-углеродная жирная кислота превращается в 14-углеродную и 2 молекулы ацетил-СoА. г) Значение K_M больше для *транс*-изомеров, чем для *цис*-изомеров, так что одинаковая скорость расщепления достигается при более высокой концентрации *транс*-изомеров по сравнению с *цис*-изомерами. В общем, *транс*-изомеры связываются хуже *цис*-изомеров, вероятно, по геометрическим причинам, пусть даже и непрямо в участке связывания. д) Накопление LCAD/VLCAD происходит по-разному, что и следует ожидать для лимитирующих стадий пути. е) Кинетические данные показывают, что *транс*-изомер менее пригоден как субстрат для LCAD, чем *цис*-изомер, но в случае VLCAD различие между субстратами небольшое. Будучи менее пригодным субстратом, *транс*-изомер накапливается в большей степени, чем *цис*-изомер. ж) Один возможный путь изображен ниже (по-

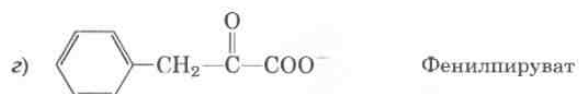
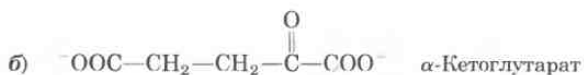
метки «внутри» и «снаружи» указывают локализацию веществ по отношению к митохондриям).



з) Справедливо, что *транс*-жиры расщепляются менее эффективно, чем *цис*-жиры, и поэтому могут «вытекать» из митохондрий. Но нельзя сказать, что *транс*-жиры совсем не расщепляются клетками: они расщепляются, но медленнее, чем *цис*-жиры.

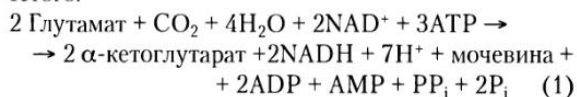
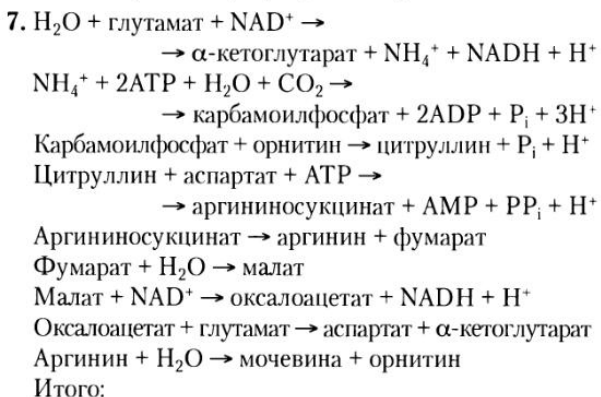
Глава 18

1.

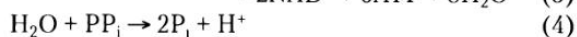


2. Метод основан на анализе параметров сопряженной реакции. Продукт медленной реакции трансаминирования (пируват) быстро расходуется в следующей «индикаторной» реакции, катализируемой лактатдегидрогеназой, которая сопровождается расходом NADH. Таким образом, скорость исчезновения NADH можно использовать при оценке скорости аминотрансферазной реакции. За ходом индикаторной реакции следят с помощью спектрофотометра по уменьшению поглощения NADH при 340 нм.
3. Аланин и глутамин играют особую роль в транспорте аминокислот из мышц и других висцеральных тканей (соответственно) в печень.
4. Не будет. В реакции трансаминирования азот из аланина переносится на оксалоацетат, в результате чего образуется аспартат.
5. 15 моль АТФ на моль лактата; 13 моль АТФ на моль аланина, если учитывать удаление азота.
6. а) Голодание приводит к снижению уровня глюкозы крови; после приема пищи происходит быстрый

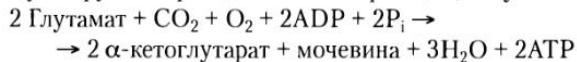
катаболизм глюकोгенных аминокислот. **б)** Окислительное дезаминирование вызывает повышение уровня NH_3 , но из-за отсутствия аргинина (промежуточного соединения в цикле мочевины) NH_3 не может включаться в мочевины. У кошки аргинин не синтезируется в достаточном количестве, чтобы преодолеть ситуацию, вызванную экспериментальными условиями. Таким образом, для этого животного аргинин — незаменимая аминокислота. **в)** В цикле мочевины орнитин превращается в аргинин.



Кроме того, следует учесть дополнительные реакции:

$$\text{AMP} + \text{ATP} \rightarrow 2\text{ADP} \quad (2)$$


Суммируя все приведенные выше реакции, получаем:



8. Вторая аминокислота в составе мочевины переносится туда из аспартата, который образуется в реакции трансаминирования между глутаматом и оксалоацетатом, катализируемой аспартатаминотрансферазой. Примерно половина всех аминокислот, выделяющихся из организма в составе мочевины, проходит через реакцию аспартатаминотрансферазы, что и объясняет очень высокую активность этого фермента по сравнению с другими аминотрансферазами.

9. а) При строгой белковой диете аминокислоты — это единственный источник метаболической энергии. Поскольку катаболизм аминокислот сопряжен с выведением избытка азота в составе мочевины, организм нуждается в дополнительном количестве воды для разбавления избытка мочевины в моче. Кроме того, электролиты в «жидком белке» тоже должны быть разбавлены и выведены из организма. Если суммарная суточная потеря воды не компенсируется обильным питьем, происходит потеря воды организмом.

б) При анализе пищевой ценности белка необходимо учитывать общее количество аминокислот, необходимое для синтеза белка в организме, и аминокислотный состав пищевого белка. Например, содержание аминокислот в желатине не сбалансировано. При употреблении в пищу большого количества желатина и расщеплении избыточного количества аминокислот может быть превышена емкость цикла мочевины, что приводит к интоксикации аммиаком. Состояние здоровья человека может усугубляться обезвоживанием, вызванным выведением из организма большого количества мочевины. Сочетание этих двух факторов может стать причиной комы и смерти.

10. Лизин и лейцин

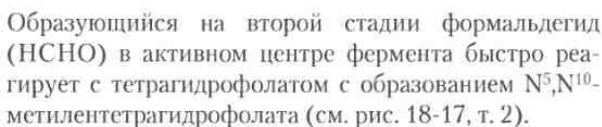
11. а) Фенилаланингидроксилаза; диета с пониженным содержанием фенилаланина. б) Блокирован нормальный путь гидроксилирования фенилаланина с образованием тирозина, и поэтому происходит накопление фенилаланина. в) В результате трансаминирования фенилаланин превращается в фенилпируват, который затем восстанавливается до фениллактата. Для этой реакции трансаминирования $K = 1,0$, так что при накоплении фенилаланина образуется значительное количество фенилпирувата. г) Это связано с низким уровнем синтеза тирозина — предшественника пигмента меланина.

12. Нарушается катаболизм углеродного скелета валина, метионина и изолейцина, что связано с отсутствием активности метилмалонил-CoA-мутазы, которой в качестве кофермента необходим витамин B_{12} . Физиологические последствия недостаточности этого фермента описаны в табл. 18-2 и в дополнении 18-2 (т. 2).

13. В диете веганов недостает витамина B_{12} , что через несколько лет приводит к тому, что у этих людей концентрация гомоцистеина и метилмалоната в крови повышается (что отражает недостаточность метионинсинтазы и метилмалонилмутазы соответственно). Лактовегетарианцы получают некоторое количество витамина B_{12} в составе молочных продуктов.

14. Генетическая форма пернициозной анемии обычно возникает как результат нарушения всасывания пищевого витамина B_{12} (см. дополнение 17-2, т. 2). Поскольку соответствующие пищевые добавки также не всасываются в кишечнике, для лечения больных применяют внутривенные инъекции препаратов B_{12} .

15. Механизм идентичен механизму реакции сериндегидратазы (см. рис. 18-20, а, т. 2) с тем только исключением, что сохраняется дополнительная метильная группа треонина и поэтому образуется не пируват, а α -кетобутират.



ре 1957 г. в крови отмечается сильно повышенный уровень изолейцина, лейцина, метионина и валина, а в моче – повышенный уровень изолейцина, лейцина, таурина и валина. **г)** У всех пациентов высокое содержание изолейцина, лейцина и валина в крови и моче, что указывает на нарушение процесса расщепления этих аминокислот. Учитывая, что в моче, кроме того, содержится много кетоформ этих трех аминокислот, метаболический путь блокирован после стадии дезаминирования, но до дегидрирования (как показано на рис. 18-28). **д)** Модель не объясняет высокой концентрации метионина в крови и таурина в моче. Высокий уровень таурина может быть связан с отмиранием клеток головного мозга на терминальных стадиях заболевания. Однако причины повышения уровня метионина непонятны. Путь расщепления метионина не связан с путями расщепления разветвленных аминокислот. Возможно, повышение уровня метионина является вторичным эффектом накопления других аминокислот. Важно помнить, что образцы января 1957 г. взяты у умирающего ребенка, так что сравнивать эти показатели с показателями крови здорового человека, по-видимому, не совсем корректно. **е)** Требуется следующая информация (и она впоследствии была получена другими исследователями): (1) у людей с болезнью кленового сиропа значительно понижена или отсутствует активность дегидрогеназы; (2) болезнь вызвана дефектом одного единственного гена; (3) этот ген кодирует часть белка или весь белок с дегидрогеназной активностью; (4) генетический дефект приводит к синтезу неактивного фермента.

Глава 19

- 1. Реакция 1:** (а), (г) NADH; (б), (д) E-FMN; (в) NAD^+/NADH и E-FMN/FMNH₂
Реакция 2: (а), (г) E-FMNH₂; (б), (д) Fe³⁺; (в) E-FMN/FMNH₂ и Fe³⁺/Fe²⁺
Реакция 3: (а), (г) Fe²⁺; (б), (д) Q; (в) Fe³⁺/Fe²⁺ и Q/QH₂
- 2.** Боковая цепь позволяет убихинону растворяться в липидах и диффундировать в полужидких мембранах.
- 3.** На основании различия стандартных восстановительных потенциалов (ΔE°) для каждой пары полуреакций можно найти значение ΔG° . Окислению сукцината под действием FAD способствует отрицательное стандартное изменение свободной энергии ($\Delta G^\circ = -3,7$ кДж/моль). Окисление NAD⁺ сопровождалось бы значительным положительным стандартным изменением свободной энергии ($\Delta G^\circ = +68$ кДж/моль).

- 4. а)** Все переносчики восстановлены; CN⁻ блокирует восстановление O₂ под действием цитохромоксидазы. **б)** Все переносчики восстановлены; если нет O₂, восстановленные переносчики не могут окисляться. **в)** Все переносчики окислены. **г)** Переносчики на ранних стадиях восстановлены, на более поздних стадиях — окислены.
- 5. а)** Ингибирование NADH-дегидрогеназы ротеном снижает скорость потока электронов в дыхательной цепи, что в свою очередь снижает скорость образования АТФ. Если из-за этого организму перестает хватать АТФ, наступает смерть. **б)** Антимитин А сильно ингибирует окисление Q в дыхательной цепи, снижая скорость переноса электронов и вызывая все те последствия, что перечислены в (а). **в)** Поскольку антимитин А блокирует передачу на кислород *всех* электронов, он — более сильный яд, чем ротенон, который блокирует только передачу электронов от NADH, но не от FADH₂.
- 6. а)** Для удовлетворения потребности в АТФ повышается скорость переноса электронов, следовательно, соотношение Р/О понижается. **б)** При высокой концентрации разобщающего агента отношение Р/О близко к нулю. При снижении этого отношения для производства того же количества АТФ следует окислить больше топливных молекул. Избыток тепла, выделяющегося в этих окислительных процессах, повышает температуру тела. **в)** Повышение активности дыхательной цепи в присутствии разобщающего агента требует расщепления дополнительных топливных молекул. Окисление дополнительных топливных молекул (включая запасные жиры) для выработки того же количества АТФ приводит к уменьшению массы тела. При Р/О → 0 недостаток АТФ вызывает смерть.
- 7.** Валиномицин выступает в роли разобщающего агента. Он взаимодействует с ионами K⁺, образуя комплекс, проникающий через внутреннюю мембрану митохондрий, что нарушает мембранный потенциал. Снижается производство АТФ, что вызывает повышение скорости передачи электронов. Это в свою очередь вызывает повышение протонного градиента, усиливает потребление кислорода и выделение тепла.
- 8. а)** Ингибируется образование АТФ. **б)** Образование АТФ тесно сопряжено с переносом электронов: 2,4-динитрофенол является разобщающим агентом для окислительного фосфорилирования. **в)** С олигомицином.
- 9.** Цитозольная малатдегидрогеназа играет ключевую роль в транспорте восстановительных эквивалентов через внутреннюю мембрану митохондрий с помощью малат-аспартатного челночного механизма.

- 10. а)** Гликолиз становится анаэробным. **б)** Потребление кислорода прекращается. **в)** Усиливается образование лактата. **г)** Выход АТФ снижается до 2 АТФ на молекулу глюкозы.
- 11.** Стационарная концентрация P_i в клетке намного выше концентрации ADP. P_i , образующийся при гидролизе АТФ, очень мало влияет на общую концентрацию P_i .
- 12.** Реакция на изменение (а) происходит значительно быстрее, поскольку реакция на изменение (б) связана с синтезом белка.
- 13. а)** Вместо молочнокислого брожения происходит окисление NADH благодаря передаче электронов. **б)** Окислительное фосфорилирование более эффективно. **в)** В условиях высокого отношения действующих масс в системе АТФ происходит ингибирование фосфофруктокиназы-1.
- 14.** Преимущество в том, что сбраживание древесных опилок до спирта можно проводить в присутствии O_2 и нет необходимости строго соблюдать анаэробные условия, что весьма сложно. Эффект Пастера не наблюдается ввиду неактивности цикла лимонной кислоты и электронтранспортной цепи.
- 15.** Возможен более эффективный транспорт электронов между комплексами.
- 16. а)** Внешняя среда: $4,0 \cdot 10^{-8}$ М; матрикс: $2,0 \cdot 10^{-8}$ М; **б)** энергетический вклад ΔpH (градиента концентрации H^+) 1,7 кДж/моль; **в)** 21; **г)** недостаточно; **д)** общий трансмембранный потенциал.
- 17. а)** 0,91 мкмоль/(с·г); **б)** 5,5 с; для поддержания концентрации АТФ на постоянном уровне регуляция его синтеза должна быть слаженной и быстрой.
- 18.** 53 мкмоль/(с·г). При стационарной концентрации АТФ 7,0 мкмоль/г это эквивалентно 10 оборотам пула АТФ в секунду. Этого запаса хватит на 0,13 с.
- 19.** Реактивные формы кислорода взаимодействуют с макромолекулами, включая ДНК. Если дефект митохондриального гена приводит к активной продукции РФК, могут повреждаться ядерные гены, кодирующие протоонкогены, что приводит к образованию онкогенов, неконтролируемому росту клеток и раку.
- 20.** Различия в степени гетероплазмии по дефектному гену являются причиной разной степени тяжести митохондриальных заболеваний.
- 21.** Внутренняя мембрана митохондрий непроницаема для NADH, но восстанавливающие эквиваленты NADH переносятся через мембрану косвенным путем: они передаются на оксалоацетат в цитозоль, образующийся малат проникает в матрикс и митохондриальный NAD⁺ восстанавливается до NADH.
- 22.** Цикл лимонной кислоты останавливается из-за отсутствия акцептора электронов, способного принять их от NADH. Образующийся в процессе гликолиза пируват не может войти в цикл в виде ацетил-СоА; накапливающийся пируват в результате трансаминирования превращается в аланин и доставляется в печень.
- 23.** Пируватдегидрогеназа локализована в митохондриях, глицеральдегид-3-фосфатдегидрогеназа — в цитозоле. Пулы клеточного NAD⁺ разделены внутренней митохондриальной мембраной.
- 24.** Полное отсутствие глюкокиназы (две дефектные аллели) делает невозможным проведение гликолиза с такой скоростью, которая обеспечила бы необходимую для секреции инсулина концентрацию АТФ.
- 25.** Дефект комплекса II приводит к усилению синтеза РФК, повреждению ДНК и мутациям, которые вызывают нерегулируемое деление клеток (рак). Пока неизвестно, почему рак возникает именно в среднем отделе тонкого кишечника.
- 26.** Для достижения максимальной скорости фотосинтеза ФСI (которая поглощает свет с длиной волны 700 нм) и ФСII (поглощает свет с длиной волны 680 нм) должны функционировать одновременно.
- 27.** Источником дополнительной массы является вода, потребленная в суммарной реакции.
- 28.** Пурпурные серные бактерии в качестве донора водорода в процессе фотосинтеза используют H_2S . Кислород в этих реакциях не участвует, поскольку единственная фотосистема бактерии не имеет марганецсодержащего расщепляющего воду комплекса.
- 29.** 0,44
- 30. а)** Останавливает; **б)** замедляет; некоторое количество электронов продолжает циркулировать по циклическому пути.
- 31.** При освещении устанавливается градиент протонов. При добавлении ADP и P_i этот градиент направляет синтез АТФ, но в темноте градиент исчезает.
- 32.** Диурон блокирует перенос электронов между ФСII и первым участком синтеза АТФ.
- 33.** В присутствии вентурицидина блокирован перенос протонов через комплекс CF_0CF_1 , и поток электронов (выделение кислорода) продолжается лишь до тех пор, пока изменение свободной энергии в процессе перекачки протонов против увеличивающегося протонного градиента не станет равным доступной свободной энергией фотонов. Динитрофенол, разрушающий протонный градиент, восстанавливает поток электронов и выделение кислорода.
- 34. а)** 56 кДж/моль; **б)** 0,29 В.

35. Из разницы восстановительных потенциалов можно найти, что ΔG° реакции составляет 15 кДж/моль. Рисунок 19-46 показывает, что энергии фотонов из любой области видимой части спектра более чем достаточно для проведения этой эндергонической реакции.
36. $1,35 \cdot 10^{-77}$; реакция крайне неблагоприятна! В хлоропластах этот барьер преодолевается за счет энергии солнечного света.
37. -920 кДж/моль.
38. Не образуется. Электроны от H_2O поступают на искусственный акцептор электронов — Fe^{3+} , а не на $NADP^+$.
39. Примерно 1 раз за 0,1 с; возбуждается 1 молекула из 10^8 .
40. Свет с длиной волны 700 нм возбуждает ФСII, но не ФСII. Электроны передаются от P700 на $NADP^+$, но от P680 электроны не поступают. При возбуждении ФСII светом с длиной волны 680 нм электроны начинают перемещаться в направлении к ФСII, но очень скоро переносчики электронов между двумя системами полностью восстанавливаются.
41. Не участвует. Возбужденный электрон от P700 возвращается для заполнения «дырки», возникшей при облучении. ФСII не должна участвовать в передаче электронов, и O_2 из H_2O не выделяется. $NADPH$ не образуется, поскольку возбужденный электрон возвращается к P700.
42. а) (1) Наличие Mg^{2+} согласуется с гипотезой о том, что хлорофилл непосредственно участвует в катализе реакции фосфорилирования: $ADP + P_i \rightarrow ATP$. (2) Многие ферменты (и другие белки), содержащие Mg^{2+} , не участвуют в фосфорилировании, так что наличие Mg^{2+} в хлорофилле не доказывает его участие в фосфорилировании. (3) Наличие Mg^{2+} важно для фотохимических свойств хлорофилла — поглощения света и переноса электронов. б) (1) Ферменты катализируют обратимые реакции, так что изолированный фермент, который в определенных экспериментальных условиях катализирует удаление фосфорильной группы, возможно, в других условиях (как в клетке) может катализировать присоединение фосфорильной группы. Поэтому возможно, что хлорофилл участвует в фосфорилировании ADP . (2) Есть два возможных объяснения: хлорофилл обладает только фосфатазной активностью и не катализирует фосфорилирование ADP в клетке, либо грубый препарат содержит примесную фосфатазную активность, не связанную с реакциями фотосинтеза. (3) Возможно, препарат содержит примесную нефотосинтетическую фосфатазную активность. в) (1) Ингибирования светом следовало бы ожи-

дать, если бы хлорофилловый белок катализировал реакцию: $ADP + P_i + \text{свет} \rightarrow ATP$. Отсутствие света благоприятствовало бы протеканию обратной реакции — дефосфорилированию. На свету система получает энергию и равновесие сдвигается вправо, снижая фосфатазную активность. (2) Это ингибирование может быть артефактом выделения или анализа. (3) Вряд ли грубые методы выделения того времени позволили в целостности сохранить мембраны хлоропластов, поэтому ингибирование, скорее всего, является артефактом. г) (1) На свету происходит синтез ATP и потребление других фосфорилированных веществ. (2) На свету происходит образование глюкозы и ее метаболизм в процессе клеточного дыхания для производства ATP , что сопровождается изменением уровня фосфорилированных интермедиатов. (3) На свету образуется ATP и расходуются другие фосфорилированные интермедиаты. д) Световая энергия используется для образования ATP (как в модели Эмерсона) и образования восстанавливающей силы (как в модели Рабиновича). е) Приблизительная стехиометрия процесса фосфорилирования (гл. 19) такова: 8 фотонов приводят к образованию 2 молекул $NADPH$ и около 3 молекул ATP . Для восстановления 1 молекулы CO_2 нужны 2 молекулы $NADPH$ и 3 молекулы ATP (гл. 20). Таким образом, для восстановления одной молекулы CO_2 требуется как минимум 8 фотонов. Это значение вполне соответствует модели Рабиновича. ж) Поскольку энергия света используется для получения как ATP , так и $NADPH$, вклад каждого поглощенного фотона заключается больше чем в образовании лишь одной молекулы ATP . Процесс извлечения энергии света более эффективен, чем предполагал Рабинович, и для реакций фотосинтеза годится любой свет, даже красный.

Глава 20

1. В некоторых органеллах концентрация специфических ферментов и метаболитов повышена, и существуют отдельные пулы кофакторов и интермедиатов. Регуляторные механизмы воздействуют лишь на конкретный пул веществ и конкретную группу ферментов.
2. Это наблюдение подтверждает, что ATP и $NADPH$ образуются на свету и необходимы для фиксации CO_2 . Конверсия прекращается при исчерпании резерва ATP и $NADPH$. Кроме того, в темноте отключаются некоторые ферменты.
3. X — 3-фосфоглицерат, Y — рибулозо-1,5-бисфосфат.
4. Рibuлозо-5-фосфат-киназа, фруктозо-1,6-бисфосфатаза, седогептулозо-1,7-бисфосфатаза и глицер-

альдегид-3-фосфатдегидрогеназа. Все активируются в результате восстановления критической дисульфидной связи до пары сульфгидрильных групп. Иодоацетат необратимо связывается с этими свободными сульфгидрильными группами.

5. Для осуществления реакций обмена дисульфидных групп, активирующих ферменты цикла Кальвина, тиоредоксину нужны обе сульфгидрильные группы.
6. Восстановительный пентозофосфатный путь приводит к образованию рибулозо-1,5-бисфосфата из триозофосфатов, появившихся в процессе фотосинтеза. Окислительный пентозофосфатный путь обеспечивает NADPH для восстановительного биосинтеза и пентозофосфаты для синтеза нуклеотидов.
7. Оба типа «дыхания» происходят в растениях и сопровождаются поглощением O_2 и выделением CO_2 . (У животных также реализуется механизм митохондриального дыхания.) Митохондриальное дыхание осуществляется непрерывно. Электроны от различных топливных молекул проходят через цепь переносчиков во внутренней мембране митохондрий и поступают к O_2 . Фотодыхание происходит в хлоропластах, пероксисомах и митохондриях. Оно осуществляется в дневное время, когда происходит процесс фотосинтетической фиксации углерода. Митохондриальное дыхание происходит главным образом ночью или в пасмурные дни. Путь электронов в процессе фотодыхания изображен на рис. 20-21, а в процессе митохондриального дыхания — на рис. 19-16.
8. Эта гипотеза подразумевает особую эволюцию, т. е. эволюцию, направленную на реализацию определенной цели. Такие идеи обычно не поддерживаются биологами-эволюционистами. Другие процессы, такие как сжигание ископаемого топлива и уничтожение лесов, сильнее воздействуют на состав атмосферы. C_4 -растения, фиксирующие CO_2 в условиях, когда рубиско предпочитает O_2 в качестве субстрата, также участвуют в установлении отношения CO_2/O_2 в атмосфере.
9. а) Без поступления NADPH из пентозофосфатного пути клетки не могли бы синтезировать липиды и другие восстановленные соединения. б) Без рибулозо-1,5-бисфосфата блокируется цикл Кальвина.
10. Фиксация CO_2 кукурузой происходит по C_4 -пути, изученному Хетчем и Слеком. В этом процессе ФЕП быстро карбоксилируется, превращаясь в оксалоацетат (некоторое количество последнего подвергается трансаминированию с образованием аспартата), а затем восстанавливается до малата. Только вслед за декарбоксилированием CO_2 включается в цикл Кальвина.
11. Измерить скорость фиксации меченого диоксида углерода на свету (днем) и в темноте. Если фиксация сильнее в темноте, это САМ-растение. Кроме того, можно определить титруемую кислотность — так можно определить количество кислот, запасенных в вакуолях за ночь.
12. Реакция изоцитратдегидрогеназы
13. Запасание 1 моля глюкозо-6-фосфата обходится в 1 моль АТР, что составляет 3,3% всего количества АТР, образующегося в метаболизме глюкозо-6-фосфата (т. е. эффективность процесса запасания глюкозы составляет 96,7%).
14. [PP_i] в цитозоле высокая, поскольку там нет неорганической пирофосфатазы.
15. а) Низкая концентрация P_i в цитозоле и высокая концентрация триозофосфатов в хлоропластах; б) высокая концентрация триозофосфатов в цитозоле.
16. 3-Фосфоглицерат — первый продукт фотосинтеза; [P_i] увеличивается при замедлении направляемого светом синтеза АТР из АДФ и P_i .
17. а) Сахароза + (глюкоза)_n → (глюкоза)_{n+1} + фруктоза; б) Образовавшаяся в синтезе декстрана фруктоза быстро захватывается и потребляется бактериями.
18. Вид 1 — C_4 -растение, вид 2 — C_3 -растение
19. а) В периферических хлоропластах; (б) и (в) в центре.
20. а) По аналогии с окисленным фотосинтезом в растениях ($H_2O + CO_2 \rightarrow \text{глюкоза} + O_2$) можно записать реакцию $H_2S + O_2 + CO_2 \rightarrow \text{глюкоза} + H_2O + S$. Это сумма процессов восстановления CO_2 под действием H_2S ($H_2S + CO_2 \rightarrow \text{глюкоза} + S$) и энергетических затрат ($H_2S + O_2 \rightarrow S + H_2O$). б) Газы H_2S и CO_2 образуются химическим путем в глубоководных отложениях, но O_2 почти повсюду на Земле образуется в фотосинтезе под действием световой энергии. в) В экспериментах Робинсона метка ^3H находится у атома $C1$ в рибулозо-1,5-бис-фосфате, так что реакция с CO_2 приводит к образованию 1 молекулы [^3H]-3-фосфоглицерата и 1 молекулы немеченого 3-фосфоглицерата. В реакции с O_2 образуется 1 молекула [^3H]-2-фосфогликолата и 1 молекула немеченого 3-фосфоглицерата. Таким образом, отношение [^3H]-3-фосфоглицерата к [^3H]-2-фосфогликолату соответствует отношению скоростей карбоксилирования и оксигенирования. г) При наличии метки ^3H у атома $C5$ в *обоих процессах* получался бы [^3H]-3-фосфоглицерат, и нельзя было бы различить, в какой реакции образуется меченый продукт. Эту реакцию нельзя использовать для определения Ω .

$$\text{д) } \frac{[\text{CO}_2]}{[\text{O}_2]} = \frac{0,00038}{0,2} = 0,0019$$

$$\frac{V_{\text{карбоксилирование}}}{V_{\text{окисгенирование}}} = \Omega \frac{[\text{CO}_2]}{[\text{O}_2]}$$

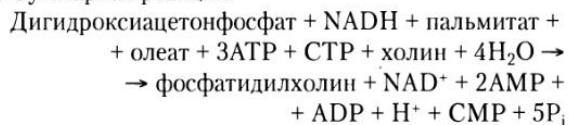
$$\frac{V_{\text{карбоксилирование}}}{V_{\text{окисгенирование}}} = 8,6 \cdot 0,0019 = 0,016$$

Таким образом, скорость окисгенирования примерно в 60 раз выше скорости карбоксилирования! **е)** Если для наземного растения $\Omega = 8,6$, карбоксилирование происходит с гораздо меньшей скоростью, чем окисгенирование. Это очень невыгодно, так что, по всей вероятности, рубиско наземных растений характеризуется значительно более высоким значением Ω , чем 8,6. В действительности значения Ω для наземных растений варьируют в диапазоне от 10 до 250. И даже при таких значениях теоретическая скорость окисгенирования остается достаточно высокой. **ж)** В реакции рубиско участвует газообразный CO_2 . При любой температуре молекулы $^{13}\text{CO}_2$ перемещаются медленнее, чем более легкие молекулы $^{12}\text{CO}_2$, поэтому $^{13}\text{CO}_2$ проникает в активный центр фермента (и включается в субстрат) медленнее, чем $^{12}\text{CO}_2$. **з)** В истинно симбиотических отношениях трубчатые черви должны получать значительную долю своего углерода от бактерий. Присутствие рубиско в эндосимбионтах просто указывает на их способность осуществлять хемосинтез, но ничего не говорит о том, что они снабжают хозяина значительным количеством собственного углерода. С другой стороны, тот факт, что соотношение $^{13}\text{C}/^{12}\text{C}$ у хозяина и эндосимбионта значительно ближе, чем у других морских обитателей, доказывает бактериальное происхождение значительной части углерода в клетках трубчатых червей.

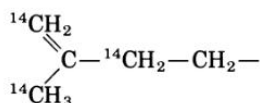
Глава 21

- а)** Шестнадцать атомов пальмитата происходят из 8 ацетильных групп 8 молекул ацетил-СоА. Меченый ацетил-СоА превращается в малонил-СоА, содержащий метку в атомах С1 и С2. **б)** Метаболический пул малонил-СоА, источник всех атомов углерода в пальмитате, за исключением атомов С16 и С15, не включает метку при введении небольшого количества меченного ^{14}C ацетил-СоА. Следовательно, образуется только $[15,16-^{14}\text{C}]$ пальмитат.
- В процессе гликолиза в пируват превращается как глюкоза, так и фруктоза. Пируват конвертируется в ацетил-СоА под действием пируватдегидрогеназного комплекса. Некоторая часть ацетил-СоА включается в цикл лимонной кислоты, в котором образуются восстановительные эквиваленты (NADH и NADPH). В митохондриях перенос электронов на O_2 приводит к образованию АТФ.

- 8 ацетил-СоА + 15АТФ + 14NADPH + 9H₂O →
→ пальмитат + 8СоА + 15ADP +
+ 15P_i + 14NADP⁺ + 2H⁺
- а)** Три атома дейтерия на молекулу пальмитата, все они локализованы у атома С16; все другие двухуглеродные звенья образованы из немеченого малонил-СоА. **б)** Семь атомов дейтерия в молекуле пальмитата; они расположены у всех четных атомов углерода за исключением атома С16.
- При использовании трехуглеродного звена малонил-СоА — активированной формы ацетил-СоА (вспомните, что для синтеза малонил-СоА требуется АТФ) — метаболизм направлен в сторону синтеза жирных кислот за счет экзергонического высвобождения CO_2 .
- Скорость синтеза жирных кислот лимитируется реакцией карбоксилирования ацетил-СоА, которую катализирует ацетил-СоА-карбоксилаза. Высокая концентрация цитрата и изоцитрата свидетельствует о том, что условия благоприятствуют синтезу жирных кислот: активный цикл лимонной кислоты обеспечивает достаточное количество АТФ, восстановленных нуклеотидов и ацетил-СоА. Цитрат стимулирует (повышает V_{max}) ацетил-СоА-карбоксилазу. **а)** Поскольку цитрат прочнее связывается с нитчатой формой фермента (активной формой), высокая концентрация цитрата сдвигает уравнение реакции протомер $\rightleftharpoons$ нитчатый полимер в сторону образования активной формы. **б)** Напротив, пальмитоил-СоА (конечный продукт синтеза жирных кислот) сдвигает равновесие реакции в сторону неактивной (протомерной) формы. Следовательно, при накоплении конечного продукта реакции происходит замедление биосинтеза.
- а)** Ацетил-СоА (мит) + АТФ + СоА (цит) →
→ ацетил-СоА (цит) + ADP + P_i + СоА (мит);
б) 1 АТФ на ацетогруппу; **в)** да.
- Двойная связь в пальмитолеате возникает в результате окислительной реакции, катализируемой ацил-СоА-десатуразой — оксидазой со смешанной функцией, использующей в качестве косубстрата кислород.
- 3 Пальмитат + глицерин + 7АТФ + 4H₂O →
→ трипальмитин + 7ADP + 7P_i + 7H⁺
- В организме взрослых крыс концентрация триацилглицеринов поддерживается на стационарном уровне путем уравнивания скоростей реакций расщепления и биосинтеза. Поэтому триацилглицерины жировой ткани постоянно находятся в обороте, что объясняет включение метки ^{14}C из поступившей с пищей глюкозы.

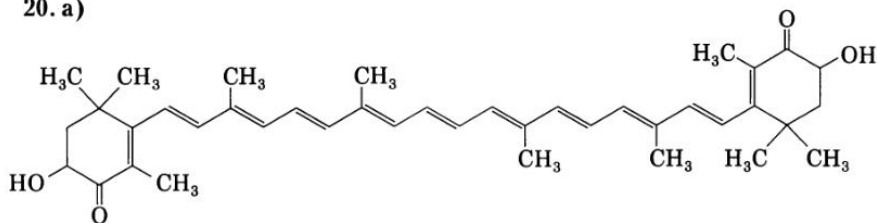
11. Суммарная реакция:

7 молекул АТР на молекулу фосфатидилхолина

12. Недостаточность метионина снижает уровень adoMet, необходимого для *de novo* синтеза фосфатидилхолина. Реутилизационный путь не использует adoMet, а использует имеющийся холин. Вот почему фосфатидилхолин может синтезироваться даже при недостатке метионина в пище, пока в организме имеется холин.**13. Метка ^{14}C появляется в активированном изопрене в трех местах:****14. а) АТР; б) UDP-глюкоза; в) CDP-этанолламин; г) UDP-галактоза; д) ацил-КоА жирной кислоты; е) S-аденозилметионин; ж) малонил-КоА; з) Δ^3 -изопренилпирофосфат****15. Линолеат необходим для синтеза простагландинов. Животные не могут превращать олеат в линолеат, поэтому линолеат — незаменимая жирная кислота. Растения могут осуществлять это превращение, поэтому линолеат содержится в растительной пище (см. рис. 21-12).****16. Лимитирующей стадией в биосинтезе холестерина является синтез мевалоната, катализируемый гидроксиметилглутарил-КоА-редуктазой. Этот фермент подвержен аллостерической регуляции мевалонатом и производными холестерина. Кроме того, при высокой внутриклеточной концентрации холестерина транскрипция гена HMG-CoA снижается.****17. При снижении уровня холестерина в результате приема статинов клетки пытаются компенсировать синтез путем повышения экспрессии гена HMG-CoA-редуктазы. Тем не менее статины — хорошие конкурентные ингибиторы HMG-CoA-редуктазы и снижают общий уровень синтеза холестерина.**

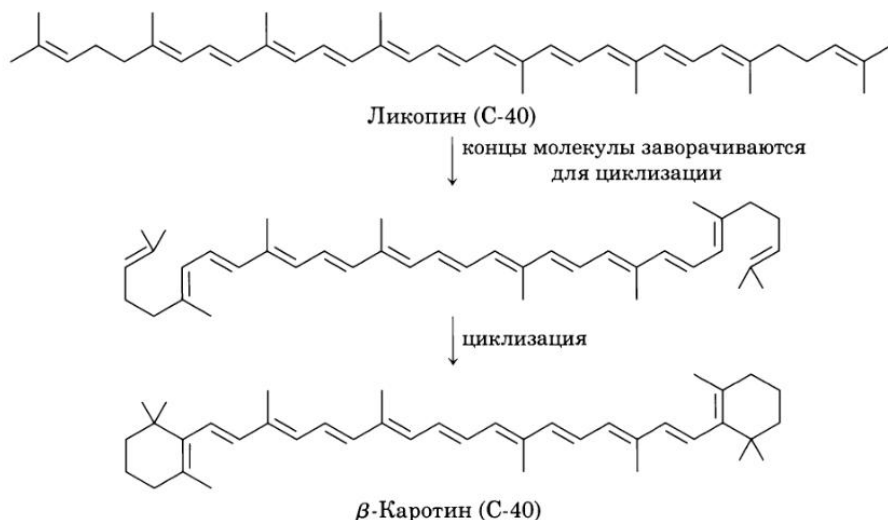
18. Примечание: студент, незнакомый с особенностями данного фермента, может предложить несколько возможных альтернатив. *Реакция тиолазы* начинается с нуклеофильной атаки остатка Cys активного центра на первую молекулу ацетил-КоА, что приводит к вытеснению $-\text{S}-\text{CoA}$ и образованию ковалентной тиоэфирной связи между остатком Cys и ацетильной группой. Затем основание в молекуле фермента притягивает протон от метильной группы второго ацетил-КоА, в результате чего образуется карбанион, атакующий углерод карбонильной группы тиоэфира, образовавшегося на предыдущей стадии. Сульфгидрильная группа остатка Cys вытесняется, и образуется ацетоацетил-КоА. *Реакция HMG-КоА-синтазы* начинается таким же образом и приводит к образованию тиоэфирной связи между остатком Cys в молекуле фермента и ацетильной группой ацетил-КоА с вытеснением $-\text{S}-\text{CoA}$. Далее $-\text{S}-\text{CoA}$ отщепляется в виде $\text{CoA}-\text{SH}$, а ацетоацетил-КоА связывается с ферментом. От метильной группы связанного с ферментом ацетила отбирается протон, что приводит к образованию карбаниона, который атакует карбонил в кетогруппе ацетоацетил-КоА. В этой реакции карбонил превращается в гидроксильный ион, который протонируется, образуя $-\text{OH}$. Затем тиоэфирная связь с ферментом подвергается гидролитическому расщеплению с образованием продукта реакции. *Реакция HMG-КоА-редуктазы:* один гидрид-ион из NADPH вытесняет $-\text{S}-\text{CoA}$, а затем второй восстанавливает альдегидную группу до гидроксильной группы.

19. Статины ингибируют HMG-КоА-редуктазу — фермент на пути синтеза активированных изопренов — предшественников холестерина и многих изопреноидов, включая кофермент Q (убихинон). Следовательно, статины могут снижать количество кофермента Q, доступного для митохондриального дыхания. Убихинон содержится в пищевых продуктах, а также образуется в результате биосинтеза, но пока неизвестно, сколько убихинона требуется организму и насколько полно пищевые источники могут восполнить недостаток биосинтеза. К побочным эффектам действия статинов относится уменьшение синтеза некоторых изопреноидов.

20. а)

Астаксантин

б) «Голова к голове». Это можно объяснить двумя способами. Во-первых, «хвост» геранилгеранилфосфата имеет разветвленную диметильную структуру, как и оба конца фитоена. Во-вторых, в результате отщепления PP_i не образуются свободных гидроксильных групп, следовательно, две $-\text{O}-\text{P}-\text{P}-$ «головки» связываются между со-



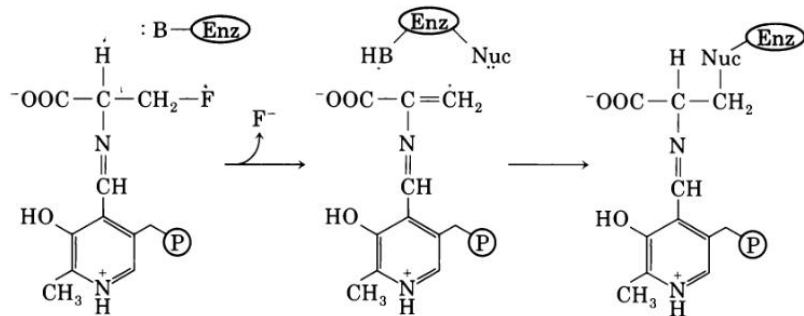
д) Стадии ①–③. Фермент может превращать IPP и DMAPP в геранилгеранилфосфат, но не катализирует следующие стадии пути, что подтверждается результатами с другими субстратами. е) Штаммы 1–4 не имеют гена *crtE* и синтезируют гораздо меньше астаксантина, чем штаммы 5–8, которые характеризуются повышенной экспрессией *crtE*. Таким образом, повышенная экспрессия *crtE* приводит к значительному усилению синтеза астаксантина. Диккий штамм *E. coli* обладает некоторой активностью, необходимой для реализации стадии ③, но это превращение фарнезилпирофосфата в геранилгеранилпирофосфат является лимитирующим. ж) IPP-изомеразы. Сравнение штаммов 5 и 6 показывает, что добавление *ispA*, продукт которого катализирует стадии ① и ②, не оказывает большого влияния на продукцию астаксантина, так что это нелимитирующие стадии. Однако из сравнения штаммов 5 и 7 следует, что добавление *idi* значительно усиливает синтез астаксантина, поэтому реакция IPP-изомеразы — лимитирующая стадия при повышенной экспрессии *crtE*. з) Уровень экспрессии был бы низким (+), сравнимым с уровнем экспрессии в штаммах 5, 6 и 9. Без повышенной экспрессии *idi* синтез астаксантина лимитируется низкой активностью IPP-изомеразы и, следовательно, низким уровнем IPP.

бой, образуя фитоен. в) В четырех раундах дегидрирования четыре простые связи превращаются в двойные. г) Нет. Подсчет одинарных и двойных связей в реакции подсказывает, что одна двойная связь заменяется двумя одинарными связями, следовательно, суммарного окисления или восстановления в этом процессе не происходит.

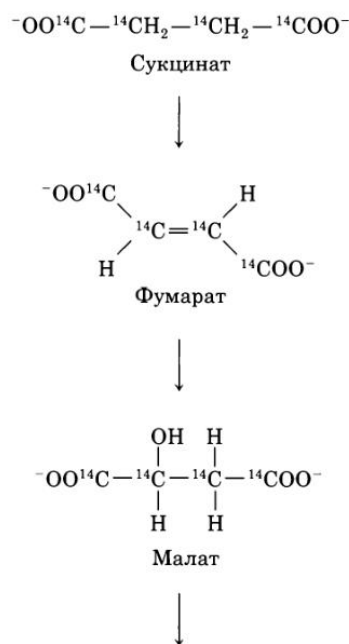
Глава 22

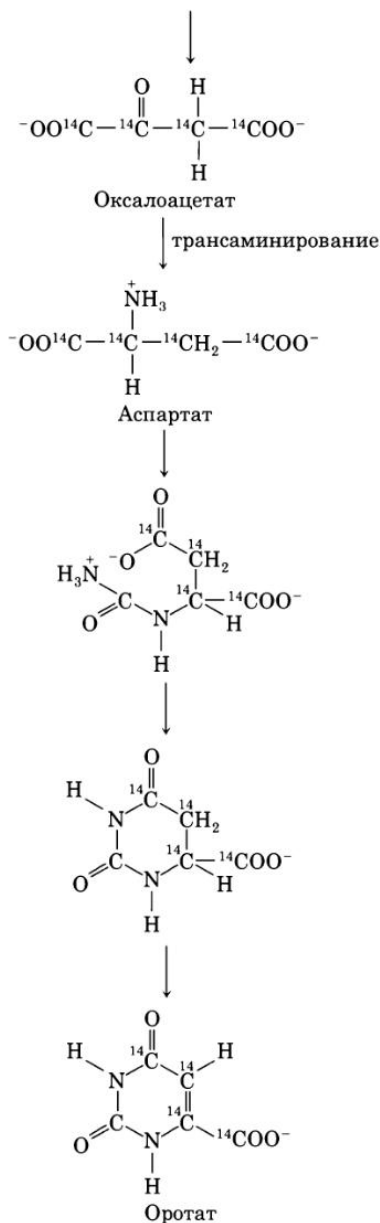
1. В условиях симбиоза бактерии поставляют растениям ион аммония NH_4^+ , который получают путем восстановления атмосферного азота. Этот процесс требует значительных затрат АТФ.
2. Перенос азота от NH_3 на углеродный скелет могут катализировать (1) глутаминсинтетаза и (2) глутаматдегидрогеназа. Последний образует глутамат, донор аминогрупп во всех реакциях трансаминирования при образовании аминокислот и синтезе белка.
3. Сначала образуется связь между связанным с ферментом PLP и фосфогомосерином, а затем в результате перегруппировки у α -углерода субстрата образуется кетиминовая группа. Это приводит к активации β -углерода и передаче протона с последующим вытеснением фосфатной группы и образованием двойной связи между β - и γ -атомами углерода. Перегруппировка (начинающаяся с удаления протона у атома углерода, соседнего с азотом аминогруппы субстрата) приводит к перемещению двойной связи между α - и β -атомами углерода, а кетимин превращается в альдимин. Атака воды на β -атом углерода облегчается связанным пиридоксалем, после чего происходит гидролиз иминовой связи между PLP и продуктом с высвобождением треонина.

4. В организме млекопитающих токсичные ионы аммония превращаются в глутамин, что снижает токсическое воздействие на головной мозг.
5. $\text{Глюкоза} + 2\text{CO}_2 + 2\text{NH}_3 \rightarrow 2\text{аспартат} + 2\text{H}^+ + 2\text{H}_2\text{O}$
6. N-концевой домен глутаминазы примерно такой же, как у всех глутаминамидотрансфераз. Лекарство, которое связывается с этим доменом, может ингибировать многие ферменты и, следовательно, вызывать значительно больше побочных эффектов, чем более специфичный ингибитор, связывающийся с уникальной C-концевой последовательностью.
7. Если фенилаланингидроксилаза теряет активность, блокируется путь биосинтеза тирозина, и организм должен получать тирозин с пищей.
8. В синтезе adoMet происходит выделение трифосфата из АТР. Гидролиз трифосфата делает реакцию термодинамически более выгодной.
9. Если бы ингибирование глутаминсинтазы не было согласованным, при насыщающей концентрации гистидина происходило бы отключение ферментативной активности и прекращение синтеза глутамина, который нужен бактерии для синтеза других продуктов.
10. Фолиевая кислота – предшественник тетрагидрофолата (рис. 18-16, т. 2), необходимого для синтеза глицина (рис. 22-12, т. 2), предшественника порфиринов. Это объясняет, почему недостаточность фолиевой кислоты нарушает синтез гемоглобина.
11. *Ауксотрофы по глицину*: аденин и гуанин; *ауксотрофы по глутамину*: аденин, гуанин и цитозин; *ауксотрофы по аспартату*: аденин, гуанин, цитозин и уридин.
12. а) Механизм рацемизации аминокислот отражен на рис. 18-6 (т. 2), стадия ②. Атом фтора во фтораланине – прекрасная уходящая группа. Фтораланин вызывает необратимое (ковалентное) ингибирование аланинрацемазы. На схеме представлен возможный механизм реакции (Nuc – любая нуклеофильная группа в боковой цепи аминокислотного остатка в активном центре фермента):



- б) Азасерин (см. рис. 22-48) – аналог глутамина. Диазоацетильная группа обладает высокой реакционной способностью и образует ковалентные связи с нуклеофильными группами в активном центре глутаминамидотрансферазы.
13. а) Как показано на рис. 18-16, *para*-аминобензоат является компонентом $\text{N}^5, \text{N}^{10}$ -метилентетрагидрофолата – кофактора, участвующего в переносе одноуглеродных фрагментов. б) В присутствии сульфаниламида, структурного аналога *para*-аминобензоата, бактерии не могут синтезировать тетрагидрофолат, который необходим для превращения AICAR в FAICAR, и в результате происходит накопление ATCAR. в) Конкурентное ингибирование сульфаниамидом фермента, участвующего в биосинтезе тетрагидрофолата, преодолевается в присутствии избытка субстрата (*para*-аминобензоата).
14. $[^{14}\text{C}]$ Оротат образуется в результате следующей серии реакций (первые три стадии являются частью цикла лимонной кислоты):





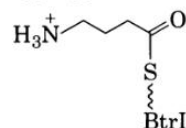
15. Клетки не запасают нуклеотиды, чтобы использовать их в качестве топливных молекул, и не расщепляют их полностью, но только высвобождают основания, которые используются в путях реутилизации. Из-за низкого значения отношения C : N нуклеотиды являются бедным источником энергии.

16. Лечение аллопурином приводит к следующим последствиям. (1) Ингибируется превращение гипоксантина в мочевую кислоту, что вызывает накопление гипоксантина, который лучше растворяется в воде и легче выводится из организма. Это смягчает клинические симптомы, связанные с расщеплением AMP. (2) Ингибируется превращение

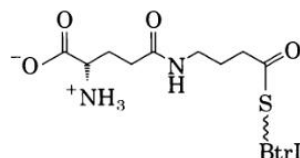
гуанина в мочевую кислоту, что вызывает накопление ксантина, который хуже растворим, чем мочевая кислота. Это и является причиной появления ксантиновых камней. Но поскольку расщепление GMP происходит в меньшем масштабе, чем расщепление AMP, повреждение почек ксантиновыми камнями — меньшее зло, чем подагра.

17. 5-Фосфорибозил-1-пирофосфат; это первый акцептор NH_3 на пути биосинтеза пуринов.

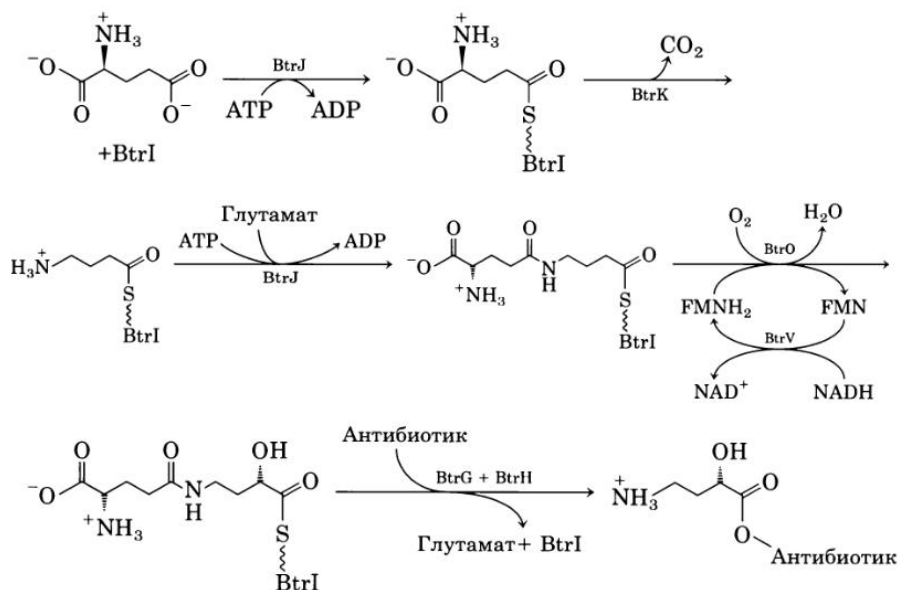
18. а) Удаляется α -карбоксильная группа, а к γ -атому углерода присоединяется $-\text{OH}$ -группа. б) Последовательность BtrI гомологична последовательности ацилпереносящих белков. Молекулярная масса BtrI увеличивается при инкубации в таких условиях, когда CoA может присоединяться к белкам. Присоединение CoA к остатку Ser приводит к замене $-\text{OH}$ -группы (мол. масса 17) на 4'-фосфопантетеиновую группу (см. рис. 21-5, т. 2) с формулой $\text{C}_{11}\text{H}_{21}\text{N}_2\text{O}_7\text{PS}$ (мол. масса 356). Таким образом, $11\ 182 - 17 + 356 = 12\ 151$, что очень близко к экспериментально найденному значению $M_r = 12\ 153$. в) Тиозфирная связь может образовываться с α -карбоксильной группой. г) В распространенной реакции удаления α -карбоксила аминокислоты (рис. 18-6, в, т. 2) эта группа свободна. Более того, трудно себе представить реакцию декарбоксилирования, начинающуюся с карбоксильной группы, находящейся в форме тиозфира. д) $12\ 240 - 12\ 281 = 41$, что близко к значению M_r для CO_2 (44). Поскольку BtrK, скорее всего, является декарбоксилазой, наиболее вероятна следующая структура:



е) $12\ 370 - 12\ 240 = 130$. При удалении от глутаминовой кислоты ($\text{C}_5\text{H}_9\text{NO}_4$, M_r 147) гидроксильной группы ($-\text{OH}$, 17) в процессе глутамилирования образуется остаток с массой 130. Таким образом, γ -глутамилирование изображенной выше молекулы приводит к увеличению ее молекулярной массы на 130. BtrJ способен осуществлять γ -глутамилирование других субстратов, в том числе и представленной выше молекулы. Скорее всего, реакция происходит по свободной аминогруппе и приводит к образованию следующей структуры:



ж)



Глава 23

- Они распознаются двумя типами рецепторов, обычно находящимися в разных типах клеток, и вызывают различные реакции.
- Стационарная концентрация ATP поддерживается за счет переноса фосфорильной группы от фосфокреатина на ADP. 1-Фтор-2,4-динитробензол ингибирует креатинкиназу.
- Аммоний чрезвычайно токсичен для нервной ткани, особенно для клеток головного мозга. Избыток NH₃ выводится за счет превращения глутамата в глутамин, который переносится в печень и впоследствии превращается в мочевины. Дополнительный глутамин возникает в результате превращения глюкозы в α-кетоглутарат, α-кетоглутарата в глутамат и глутамата в глутамин.
- Глюкогенные аминокислоты используются в синтезе глюкозы для головного мозга; другие окисляются в митохондриях в цикле лимонной кислоты.
- Из глюкозы по следующему пути: глюкоза → дигидроксиацетонфосфат (гликолиз); дигидроксиацетонфосфат + NADH + H⁺ → глицерин-3-фосфат + NAD⁺ (реакция глицерин-3-фосфатдегидрогеназы).
- а)** Повышенная мышечная активность требует дополнительного ATP, который образуется при усиленном потреблении O₂. **б)** После быстрого бега образовавшийся в анаэробном гликолизе лактат превращается в глюкозу и гликоген, что также требует расхода ATP и, следовательно, O₂.
- Глюкоза — основное топливо мозга. TPP-зависимое окислительное декарбоксилирование пирувата до ацетил-CoA — обязательная стадия полного метаболизма глюкозы.

8. 190 м

- а)** Инактивация — быстрый способ изменения концентрации гормона. **б)** Уровень инсулина поддерживается путем выравнивания скоростей его синтеза и расщепления. **в)** За счет изменения скорости высвобождения из запасных гранул, скорости транспорта и превращения прогормона в активный гормон.
- Водорастворимые гормоны связываются с рецепторами на внешней поверхности клетки, запуская образование вторичных посредников (таких как cAMP) внутри клетки. Жирорастворимые гормоны проникают через плазматическую мембрану и непосредственно взаимодействуют с молекулами-мишенями или с рецепторами.
- а)** В сердце и скелетных мышцах отсутствует глюкозо-6-фосфатаза. Весь образующийся глюкозо-6-фосфат направляется по пути гликолиза, а при недостатке кислорода превращается в лактат через пируват. **б)** При реакции «борьба или бегство» концентрация предшественников гликолиза должна быть высокой, чтобы обеспечить мышечную активность. Фосфорилированные соединения не могут выходить из клетки, поскольку мембрана непроницаема для заряженных молекул, и поэтому глюкозо-6-фосфат не переносится с помощью переносчика глюкозы. Напротив, печень должна высвобождать в кровь глюкозу для ее поддержания на постоянном уровне. Глюкоза образуется из глюкозо-6-фосфата и переносится в кровотоки.
- а)** Усиливается захват глюкозы из крови и ее метаболизм в печени, что приводит к гипогликемии; отключается катаболизм аминокислот и жирных

кислот. б) Циркулирующих в крови топливных молекул недостаточно для синтеза АТФ. Мозг повреждается по той причине, что для него глюкоза — главный источник энергии.

13. Тироксин выступает в роли разобщающего агента в окислительном фосфорилировании. Разобщающие агенты снижают отношение Р/О, и для удовлетворения потребностей в АТФ ткани усиливают процесс дыхания. Термогенез также может объясняться усиленной утилизацией АТФ стимулированной тироксином тканью, поскольку при повышении потребности в АТФ усиливается окислительное фосфорилирование и повышается интенсивность дыхания.
14. Поскольку прогормоны неактивны, они могут в необходимом количестве храниться в секреторных гранулах. Быстрая активация прогормонов достигается путем ферментативного расщепления в ответ на соответствующий сигнал.
15. В организме животных глюкоза синтезируется из многих предшественников (см. рис. 1-15). В организме человека основным предшественником глюкозы является глицерин из триацилглицеринов и глюконеогенные кислоты из белков.
16. Исходно страдавшая ожирением мышь с генотипом *ob/ob* начнет худеть, мышь *OB/OB* сохранит свой нормальный вес.
17. ИМТ = 39,3. Человек такого роста имеет нормальный показатель ИМТ = 25 при массе тела 75 кг. Следовательно, ему нужно похудеть на 43 кг (95 фунтов).
18. Секретция инсулина понизится. Валиномицин оказывает такое же действие, как открытие K^+ -каналов, позволяя ионам K^+ выходить из клетки, что вызывает гиперполяризацию.
19. Печень не получает сигнал инсулина и, следовательно, продолжает поддерживать высокий уровень глюкозо-6-фосфата и глюконеогенеза, повышая уровень глюкозы крови как при голодании, так и после приема сахаросодержащей пищи. Повышенный уровень глюкозы крови вызывает высвобождение инсулина β -клетками поджелудочной железы, несмотря на высокий уровень инсулина в крови.
20. Следует учесть несколько аспектов. Какова вероятность возникновения сердечных приступов, связанных с приемом препарата. Как эта вероятность соотносится с вероятностью сердечных приступов у людей с хроническими осложнениями диабета 2 типа. Существуют ли столь же эффективные методы лечения, вызывающие меньше нежелательных побочных эффектов.
21. При отсутствии глюкозидазной активности кишечника замедляется всасывание глюкозы из пищевого крахмала и гликогена, что снижает обычный

подъем концентрации глюкозы крови после приема пищи. Нерасщепленные олигосахариды ферментируются бактериями в толстой кишке, а выделяющиеся при этом газы вызывают дискомфорт.

22. а) Закрытие АТФ-зависимых K^+ -каналов приводит к деполяризации мембраны и усилению секреции инсулина. б) Диабет 2 типа связан с понижением чувствительности клеток к инсулину, а не с недостаточным синтезом инсулина. Повышение концентрации циркулирующего инсулина ослабляет симптомы заболевания. в) У больных диабетом 1 типа повреждены β -клетки поджелудочной железы, поэтому глибурид таким больным не поможет. г) Иод, как и хлор, который иод замещает в меченом глибуриде, — галоген, но его размер больше и он имеет несколько иные свойства. Поэтому возможно, что иодированный глибурид не связывается с SUR. Если же вместо этого он связывается с другой молекулой, в результате эксперимента будет клонирован ген другого белка. д) Хотя белок очищали, но «очищенный» препарат мог представлять собой смесь нескольких белков, выделяющихся одновременно в одних и тех же экспериментальных условиях. В таком случае аминокислотная последовательность могла бы соответствовать последовательности такого сопутствующего белка. Вероятность этого события исключили с помощью антител, показавших, что данные пептидные последовательности присутствуют в SUR. е) Хотя клонированный ген действительно кодирует 25-аминокислотную последовательность, обнаруженную в SUR, в принципе, возможно, что этот ген кодирует такую же последовательность в другом белке. В таком случае этот другой ген с большей вероятностью должен экспрессироваться в других клетках, чем ген SUR. Эксперименты по гибридизации мРНК доказали, что кДНК предполагаемого гена SUR действительно кодирует SUR. ж) Избыток немеченого глибурида конкурирует с меченым глибуридом за связывание с SUR. В результате наблюдается связывание гораздо меньшего количества меченого глибурида, и поэтому в белке с массой 140 кДа практически не обнаружено радиоактивности. з) В отсутствие избытка немеченого глибурида меченый белок с массой 140 кДа обнаружен только в присутствии предполагаемой кДНК SUR. Избыток немеченого глибурида конкурирует с меченым глибуридом, и меченого ^{125}I 140-кДа белка обнаружено не было. Это показывает, что кДНК кодирует связывающийся с глибуридом белок точно такой же массы, как и SUR — строгое доказательство того, что клонированный ген кодирует белок SUR. и) Возможны дополнительные эксперименты. (1) Осуществить

экспрессию кДНК предполагаемого *SUR* в клетках СНО (клетки яичников китайского хомячка) и показать, что трансформированные клетки обладают активностью АТР-зависимых K^+ -каналов. (2) Показать, что клетки Н1Т с мутациями в предполагаемом гене *SUR* теряют активность АТР-зависимых K^+ -каналов. (3) Показать, что экспериментальные животные или люди с мутациями в предполагаемом гене *SUR* не способны секретировать инсулин.

Глава 24

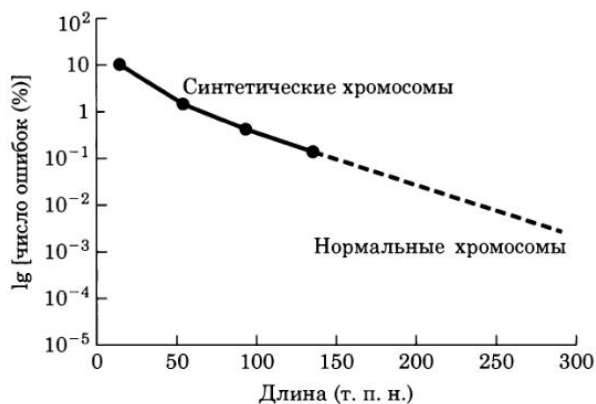
1. $6,1 \cdot 10^4$ нм; в 290 раз длиннее головки фага Т2.
2. Число остатков А не равно числу Т, а число Г не равно числу С. Это означает, что эта ДНК не двойная спираль, образованная при спаривания оснований. На самом деле фаг М13 имеет однонитевую ДНК.
3. $M_r = 3,8 \cdot 10^8$; длина 200 мкм; $L_0 = 55\ 200$; $L_k = 51\ 900$.
4. Экзоны содержат 3 п.н./аминокислоту х 192 аминокислоты = 576 п. н. Оставшиеся 864 п. н. составляют последовательности интронов, возможно, лидирующую или сигнальную последовательность, а также другие некодирующие участки ДНК.
5. 5000 п. н. а) Не изменяется; L_k не может изменяться без разрыва одних и образования других ковалентных связей в ДНК. б) Становится неопределенной. По определению кольцевая ДНК с разрывом в одной нити не имеет L_k . в) Снижается. В присутствии АТР гираза раскручивает ДНК. г) Не изменяется, если при нагревании в нитях ДНК не произошло разрывов.
6. Чтобы L_k не изменилось, топоизомераза должна вводить одинаковое число положительных и отрицательных витков.
7. $\sigma = -0,067$; вероятность $>70\%$.
8. а) Неопределенное; нити никрированной ДНК могут быть разъединены и, следовательно, не имеют L_k . б) 476; в) 476; ДНК уже релаксирована, так что топоизомераза не вызывает никаких изменений. г) 460; каждое действие ДНК-гиразы в присутствии АТР снижает L_k на две единицы. д) 464; эукариотическая топоизомераза I повышает L_k слабо закрученной или имеющей отрицательные супервитки ДНК на одну единицу. е) 460; связывание с нуклеосомой не приводит к разрыву нитей ДНК и поэтому не влияет на значение L_k .
9. Основная структурная единица хроматина повторяется примерно каждые 200 п. н; ДНК доступна для нуклеазы только через интервалы 200 п. н. Краткой обработки недостаточно для расщепления ДНК во всех доступных точках, поэтому возникает лестница фрагментов ДНК, масса которых кратна 200 п. н. Толщина полос ДНК говорит о некоторой

вариабельности расстояний между участками расщепления. Например, не все фрагменты в самой нижней полосе имеют размер точно 200 п. н.

10. Правая спираль характеризуется положительным значением L_k , левая спираль (как в Z-ДНК) – отрицательным значением. Снижение L_k замкнутой кольцевой В-ДНК путем введения отрицательных витков облегчает образование участков Z-ДНК в некоторых последовательностях. (О последовательностях, способствующих образованию Z-ДНК, говорится в гл. 8.)
11. а) Обе нити должны быть замкнуты ковалентными связями в кольцо, либо ограничены на концах каким-либо другим образом. б) Образование крестообразных структур, левозакрученной Z-ДНК, плектонемических или соленоидальных структур, а также раскрученных молекул ДНК. в) Топоизомераза II или ДНК-гираза *E. coli*. г) Фермент связывается с ДНК в точках пересечения двунитевой последовательности, расщепляет обе нити одного из пересекающихся сегментов, протягивает другой сегмент через разрыв, а затем зашивает разрыв. В результате значение L_k уменьшается на 2.
12. Центромера, теломеры и автономно реплицирующиеся последовательности или точка начала репликации.
13. Бактериальный нуклеоид организован в виде доменов длиной примерно по 10 000 п. н. Расщепление рестриктазой приводит к релаксации ДНК внутри домена, но не за его пределами. Это повлияет на экспрессию всех генов домена, зависящую от топологии ДНК, но не на гены в других доменах.
14. а) При соединении концов ДНК с образованием замкнутого релаксированного кольца, некоторые типы ДНК полностью релаксированы, тогда как другие все же имеют некоторое количество левых или правых витков. Это и объясняет распределение топоизомеров относительно наиболее расслабленной формы. б) Положительная суперспираль. в) ДНК, находящаяся в релаксированном состоянии даже при добавлении красителя, имеет разрыв в одной или в обеих нитях. В ходе выделения кольцевой ДНК в некоторых молекулах неизбежно появляется некоторое количество разрывов. г) Примерно $-0,05$. Это значение определяется просто путем сравнения нативной ДНК с образцами с известным значением σ . На обоих гелях нативная ДНК движется ближе всего к образцу с $\sigma = -0,049$.
15. а) При нерасхождении хромосом одна дочерняя клетка и все ее потомство имеют две копии синтетической хромосомы и окрашены в белый цвет. Другая дочерняя клетка и ее потомство не имеют копии синтетической хромосомы и окрашены в

красный цвет. Поэтому половина колонии белая, а половина красная. **б)** При потере хромосомы одна дочерняя клетка и ее потомство имеют одну копию синтетической хромосомы и окрашены в розовый цвет. Другая дочерняя клетка и ее потомство не имеют копии синтетической хромосомы и окрашены в красный цвет. В результате получают красно-розовые колонии. **в)** Функциональная центромера должна иметь размер менее 0,63 т. п. н., поскольку все фрагменты больше этого размера более стабильны при митозе. **г)** Теломеры нужны для полной репликации линейных молекул ДНК, кольцевая ДНК может реплицироваться без них. **д)** Чем крупнее хромосома, тем точнее осуществляется процесс сегрегации. Однако представленные данные не указывают ни на минимальный размер, ниже которого синтетическая хромосома полностью нестабильна, ни на максимальный размер, выше которого стабильность уже не меняется.

е) Нормальные хромосомы.



Как показывает график, даже если бы синтетические хромосомы имели такую же длину, как нормальные дрожжевые хромосомы, они не были бы такими же стабильными. Это означает, что на стабильность хромосом влияют еще какие-то другие, пока неизвестные факторы.

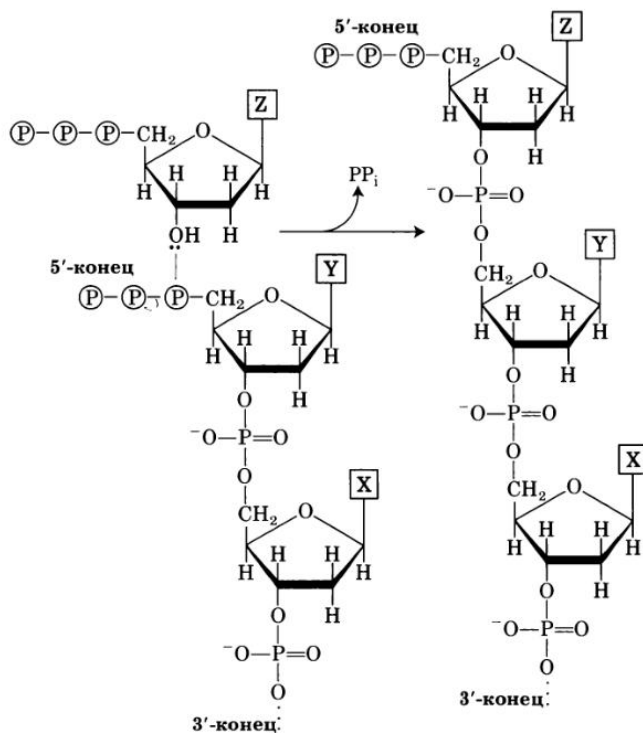
цикл начинается до того, как завершится предыдущий. **в)** от 2000 до 5000 фрагментов Оказаки. Эти фрагменты имеют длину от 1000 до 2000 нуклеотидов и прочно связаны с матрицей путем спаривания оснований. Каждый синтезированный фрагмент быстро присоединяется к отстающей нити, что обеспечивает правильный порядок фрагментов.

4. А 28,7%, G 21,3%, C 21,3%, T 27=8,7%. Нить ДНК, синтезированная на матричной нити: А 32,7%, G 18,5%, C 24,1%, T 24,7%; нить ДНК, синтезированная на основе комплементарной нити: А 24,7%, G 24,1%, C 18,5%, T 32,7%. Предполагается, что обе матричные нити реплицировались полностью

5. **а)** Нет. Включение метки ^{32}P в ДНК происходит в результате синтеза новой ДНК, что возможно только в присутствии *всех четырех* предшественников.

б) Да. Хотя для синтеза ДНК необходимы все четыре нуклеотидных предшественника, чтобы метка включилась в новую ДНК, радиоактивным должен быть лишь один из них. **в)** Нет. Радиоактивность включается в ДНК лишь в том случае, если метка ^{32}P содержится в α -фосфатной группе, поскольку ДНК-полимераза отщепляет пирофосфат, т. е. β - и γ -фосфатные группы.

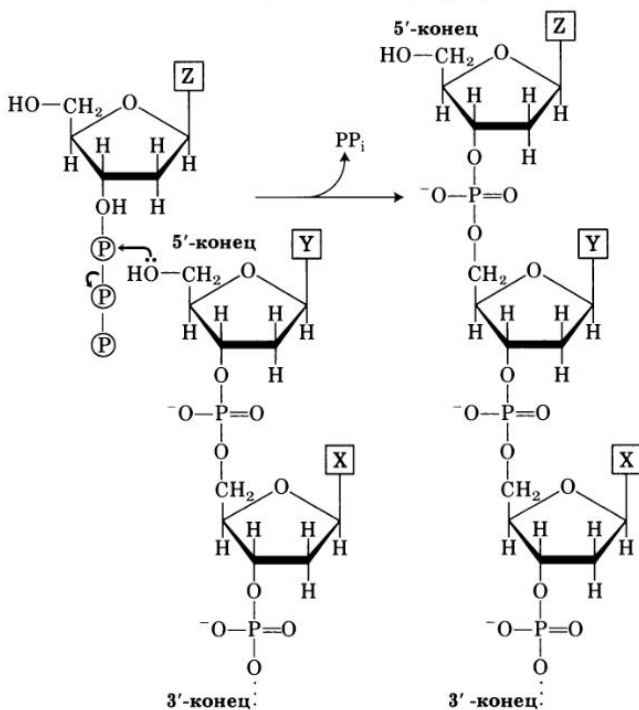
6. **Механизм 1:** 3'-ОН присоединяющегося dNTP атакует α -фосфат трифосфата на 5'-конце растущей нити ДНК, вытесняя пирофосфат. Механизм использует нормальные dNTP, и растущая цепь ДНК всегда имеет трифосфат на 5'-конце.



Глава 25

1. При случайной, «дисперсионной» репликации во втором поколении вся ДНК должна была бы иметь одинаковую плотность и появляться в виде единой полосы, а не двух полос, которые наблюдали Мезельсон и Сталь.
2. В этом продолжении эксперимента Мезельсона–Сталя после трех клеточных делений соотношение ^{15}N - ^{14}N ДНК к ^{14}N - ^{14}N ДНК составляет $2/6 = 0,33$.
3. **а)** $4,42 \cdot 10^5$ оборотов; **б)** 40 минут. В клетках, делящихся каждые 20 минут, цикл репликации начинается каждые 20 минут, так что каждый следующий

Механизм 2: Здесь используются предшественники нового типа — нуклеотид-3'-трифосфаты. На растущем конце цепи ДНК имеется 5'-ОН-группа, которая атакует α -фосфат следующего дезоксинуклеотид-3'-фосфата, вытесняя пиррофосфат. Обратите внимание, что для этого механизма требуется эволюция новых метаболических путей, обеспечивающих синтез новых дезоксинуклеотид-3'-трифосфатов.



7. Лидирующая нить: предшественники: dATP, aGTP, dCTP, dTTP (а также матрица ДНК и ДНК-праймер); ферменты и другие белки: ДНК-гираза, геликаза, белок, связывающий однострковую ДНК, ДНК-полимераза III, топоизомеразы и пиррофосфатаза. **Отстающая нить:** предшественники: ATP, GTP, CTP, UTP, dATP, dGTP, dCTP, dTTP (а также РНК-праймер); ферменты и другие белки: ДНК-гираза, геликаза, белок, связывающий однострковую ДНК, праймаза, ДНК-полимераза III, ДНК-полимераза I, лигаза, топоизомеразы и пиррофосфатаза. ДНК-лигаза в качестве кофактора использует NAD^+ .

8. Мутанты с дефектной ДНК-лигазой образуют ДНК-дуплекс, в котором одна из нитей остается в виде отдельных фрагментов (фрагментов Оказаки). При денатурации такого дуплекса с последующей седиментацией получается одна фракция, содержащая интактную нить ДНК (полоса с большой молекулярной массой), и вторая фракция, содержащая отдельные фрагменты (низкомолекулярная полоса).

9. Уотсон-криковское спаривание оснований между матрицей и лидирующей нитью; проверка и удаление неправильно встроенных нуклеотидов под действием 3'-экзонуклеазной активности ДНК-полимеразы III. Да, это возможно. Поскольку механизмы, обеспечивающие точность репликации функционируют как для лидирующей, так и для отстающей цепи, отстающая цепь может, в принципе, собираться с такой же точностью. Однако большое число химических реакций при биосинтезе этой цепи может быть дополнительным источником ошибок.

10. ~ 1200 п. н. (600 п. н. в каждом направлении).

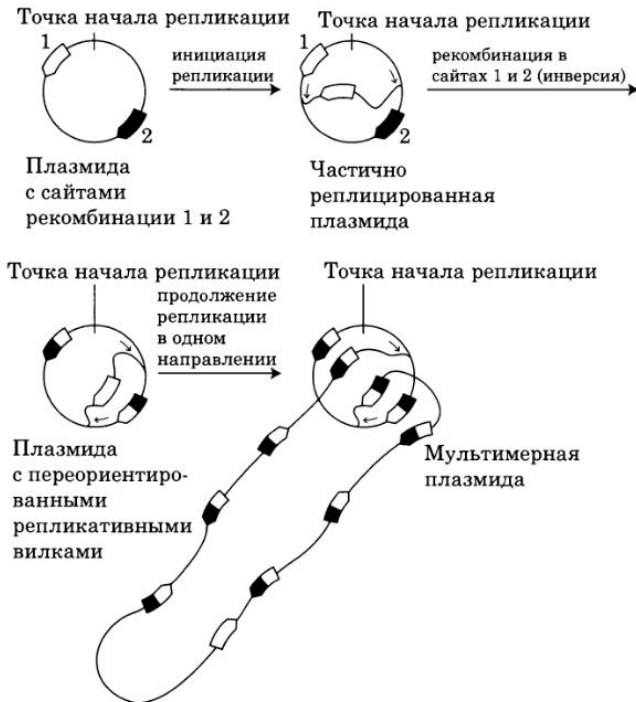
11. Небольшая часть (13 из 10^9 клеток) ауксотрофных по гистидину мутантов переживают спонтанную обратную мутацию и вновь приобретают способность синтезировать гистидин. 2-Аминоантрацен повышает вероятность таких мутаций примерно в 1800 раз и, следовательно, является мутагеном. Большинство канцерогенных веществ являются мутагенами, так что 2-аминоантрацен также может быть канцерогеном.

12. Спонтанное дезаминирование 5-метилцитозина (см. т. 1, с. 395) приводит к образованию тимина и аномальной пары G-T. Это одна из самых распространенных ошибок в эукариотической ДНК. Специализированная система репарации находит дефект и восстанавливает пары G=C.

13. а) Ультрафиолетовое облучение приводит к образованию пиримидиновых димеров. В нормальных фибробластах они удаляются путем вырезания фрагмента поврежденной нити с помощью специального фермента. Поэтому денатурированная однострковая ДНК состоит из множества фрагментов, образовавшихся в результате такого расщепления, и средняя молекулярная масса этой ДНК меньше. В ДНК больных пигментной ксеродермой такие фрагменты отсутствуют и средняя молекулярная масса ДНК не изменяется. **б) Отсутствие фрагментов однострковой ДНК** в клетках больных после УФ-облучения свидетельствует о дефекте или об отсутствии специфической эксцизионной нуклеазы.

14. При гомологичной генетической рекомбинации между парами гомологичных хромосом практически в любых местах могут образовываться структуры Холлидея, и точка ветвления может мигрировать на достаточно большое расстояние. При сайт-специфической рекомбинации структуры Холлидея образуются между двумя специфическими участками, и миграция ветви обычно ограничена гетерологичными последовательностями по обе стороны от участка рекомбинации.

15. При наступлении момента в ходе репликации, когда один сайт рекомбинации уже реплицировался, а другой еще нет, происходит сайт-специфическая рекомбинация, сопровождающаяся изменением направления движения репликативных вилок. Вилки движутся друг за другом по кольцу ДНК, создавая множество tandemных копий плазмиды. Такое мультимерное кольцо может быть разделено на мономеры в результате дополнительных раундов сайт-специфической рекомбинации.



16. а) Фоновые мутации происходят даже без добавления мутагена – под воздействием радиации, химических процессов в клетке и других событий. б) При значительном поражении клеточной ДНК нарушается функция продуктов многих генов, и клетка становится нежизнеспособной. в) Клетки с ослабленной системой репарации ДНК более чувствительны к действию мутагенов. Поскольку клетки *uvr⁻* хуже справляются с репарацией повреждений, вызванных воздействием R7000, в них выше частота мутаций, в том числе летальных. г) В штамме *uvr⁺* система эксцизионной репарации удаляет основания ДНК со связанным [³H]R7000, снижая содержание ³H в этих клетках. В штамме *uvr⁻* репарация не происходит, и уровень ³H постепенно повышается по мере взаимодействия [³H]R7000 с ДНК. д) Все перечисленные в таблице мутации, за исключением замены А=Т на Г=С, значительно учащаются по сравнению с фоном. Мутация каждого типа вызвана особым взаимо-

действием между R7000 и ДНК. Поскольку не все эти взаимодействия равновероятны (из-за различий в реакционной способности, стерических ограничений и др.), мутации возникают с разной частотой. е) Нет, только те, что начинаются с пары Г=С. Таким образом, замены А=Т на С=Г и А=Т на Т=А вызваны связыванием R7000 с А или с Т. ж) R7000-Г образует пару с А. Сначала R7000 связывается с Г=С с образованием R7000-Г=С. (Сравните с тем, что происходит с CH₃-Г на рис. 25-28, б, т. 3). Если не происходит репарации, одна нить реплицируется как R7000-Г=А, что в результате репарации превращается в Т=А. Другая нить сохраняется неизменной. Если в результате репликации образуется R7000-Г=Т, то тот же самый путь приводит к паре А=Т. з) Нет. Сравните данные двух таблиц, не забывая о том, что разные мутации происходят с разной частотой.

А=Т на С=Г: умеренная в обоих случаях, но в штамме *uvr⁺* репарация эффективнее

Г=С на А=Т: умеренная в обоих случаях, без заметной разницы

Г=С на С=Г: выше в штамме *uvr⁺*, безусловно, репарация менее эффективна!

Г=С на Т=А: высокая в обоих случаях, без заметной разницы

А=Т на Т=А: высокая в обоих случаях, без заметной разницы

А=Т на Г=С: низкая в обоих случаях, без заметной разницы

Некоторые аддукты эффективнее распознаются системой репарации, чем другие, и поэтому удаляются быстрее и приводят к меньшему числу мутаций.

Глава 26

- а) от 60 до 100 с; б) от 500 до 900 нуклеотидов
- Ошибка в единственном основании при репликации ДНК приведет к тому, что одна из дочерних клеток и все ее потомство будут иметь мутированную хромосому. Ошибка в единственном основании при транскрипции РНК не влияет на хромосому, но может привести к синтезу дефектной копии белка. Но поскольку оборот мРНК осуществляется достаточно быстро, большинство копий белка этого дефекта иметь не будут, и потомство этой клетки будет нормальным.
- Блокируется или ингибируется посттранскрипционный процессинг 3'-конца (расщепление и полиаденилирование).
- Поскольку матричная РНК не кодирует ферменты, необходимые для инициации вирусной ин-

- фекции, она, скорее всего, окажется инертной или просто расщепится клеточными рибонуклеазами. Репликация этой РНК и распространение вируса возможно лишь в том случае, если в клетки вместе с матричной РНК ввести интактную РНК-репликазу (РНК-зависимую РНК-полимеразу).
5. (1) В качестве матрицы используют последовательность нуклеиновой кислоты; (2) синтез происходит в направлении 5'→3'; (3) в качестве субстратов используют нуклеозидтрифосфаты и образуют фосфодиэфирные связи с вытеснением PP_i . Поли-нуклеотидфосфатаза образует фосфодиэфирные связи, но отличается от остальных ферментов по всем остальным пунктам.
 6. Обычно две: одна для расщепления фосфодиэфирной связи на одном стыке интрона и экзона, а вторая — для связывания освободившегося конца экзона с экзоном с другой стороны от интрона. Если в качестве нуклеофила в первой реакции выступает молекула воды — это стадия гидролиза, и тогда для осуществления сплайсинга требуется лишь одна реакция трансэтерификации.
 7. В интронах закодированы многие мякРНК, необходимые для модификаций рРНК. Если не происходит сплайсинга, мякРНК не образуются.
 8. Эти ферменты не имеют корректирующей 3'→5'-экзонуклеазной активности и поэтому допускают значительное количество ошибок. При этом вероятность ошибок при репликации, приводящих к инактивации вируса, в маленьком геноме намного ниже, чем в большом.
 9. а) $4^{32} = 1,8 \cdot 10^{19}$; б) 0,006%; в) Для осуществления «неестественного отбора» используйте хроматографическую смолу со связанными молекулами, которые представляют собой аналоги переходного состояния в реакции гидролиза сложного эфира

(например, подходящий фосфонат; см. Дополнение 6-3).

10. α-Аманитин останавливает синтез РНК, и когда через несколько дней все существующие молекулы мРНК и белков в печени расщепляются, возникает дисфункция печени и наступает смерть.
11. а) После лизиса клеток и частичной очистки белковый экстракт следует подвергнуть изоэлектрическому фокусированию. Для идентификации β-субъединицы можно использовать антитела. Различие в аминокислотных последовательностях нормальной β-субъединицы и мутантной формы (а именно разные заряды аминокислотных остатков) отразится на электрофоретической подвижности белков в геле. б) Прямое секвенирование ДНК (по Сенгеру).
12. а) 384 п. н.; б) 1620 п. н.; в) Большинство нуклеотидов расположено в нетранслируемых участках на 3'- и 5'-концах мРНК. Кроме того, значительная часть мРНК кодирует сигнальную последовательность (гл. 27) белков, которая в конечном итоге отщепляется при формировании зрелого функционального белка.
13. а) кДНК синтезируется в процессе обратной транскрипции мРНК; таким образом, мРНК, по-видимому, имела последовательность CGG. Поскольку геномная ДНК, на основе которой синтезирована мРНК, имела последовательность CAG, первичный транскрипт, вероятно, имел последовательность CAG, а в процессе посттранскрипционной модификации превратился в CGG. б) Нередактированная последовательность мРНК совпадает с последовательностью ДНК (за исключением замены Т на У). Нередактированная последовательность мРНК имела следующий вид (* указывает место редактирования):

(5')...GUCUCUGGUUUUCCUUGGGUGCCUUAUGCAGCAAGGAUGCGAUUUUCGCCAAG...(3')

На стадии 1 праймер 1 отжигается следующим образом:

(5')...GUCUCUGGUUUUCCUUGGGUGCCUUAUGCAGCAAGGAUGCGAUUUUCGCCAAG...(3')

Праймер 1: (3')-CGTTCCTACGCTATAAAGCGGTTC-(5')

Последовательность кДНК (подчеркнута) синтезирована справа налево:

(5')...GUCUCUGGUUUUCCUUGGGUGCCUUAUGCAGCAAGGAUGCGAUUUUCGCCAAG...(3')

(3')...CAGAGACCAAAAGGAACCCACGGAAATACGTCGTTTCCTACGCTATAAAGCGGTTC-(5')

На стадии 2 образуется кДНК:

(3')...CAGAGACCAAAAGGAACCCACGGAAATACGTCGTTTCCTACGCTATAAAGCGGTTC-(5')

На стадии 3 праймер 2 отжигается на кДНК:

Праймер 2: (5')-CCTTGGGTGCCTTTA-(3')

(3')...CAGAGACCAAAAGGAACCCACGGAAATACGTCGTTTCCTACGCTATAAAGCGGTTC-(5')

ДНК-полимераза добавляет нуклеотиды к 3'-концу праймера. Двигаясь слева направо, она встраивает Т, Г, С и А. Однако поскольку А из ddATP не имеет на 3'-конце ОН-группы, необходимой для присоединения следующего нуклеотида, цепь дальше не удлиняется. Это А выделено курсивом, а новая ДНК подчеркнута:



В результате образуется нередктированный транскрипт из 19 нуклеотидов. В транскрипте после редактирования *А заменяется на Г; в последовательности кДНК это соответствует С. Начинается стадия 3:



В данном случае ДНК-полимераза может продвигаться за замененным основанием и останавливается у следующего Т в последовательности кДНК. Дидезокси-А выделено курсивом, новая ДНК подчеркнута:



В результате образуется продукт, состоящий из 22 нуклеотидов. **в)** Факторы, нарушающие функцию белка (протеазы, тепло), ингибируют редакционный процесс, а те, что не влияют на функцию белков (нуклеазы), практически никакого действия не оказывают. Основной недочет этого аргумента заключается в том, что факторы, нарушающие функцию белка, не вызвали полной остановки редактирования. Возможно, некоторое редактирование или расщепление мРНК происходит даже без фермента или какая-то часть фермента сохранила свою активность. **г)** В полинуклеотиды включается только α -фосфат НТР. Если бы исследователи использовали другие типы [^{32} P]НТР, не было бы меченых продуктов. **д)** Поскольку модификация затрагивает только основание А, нас интересует только судьба всех А в последовательности. **е)** Поскольку метка содержалась только в АТР, при удалении целого нуклеотида из мРНК исчезла бы вся радиоактивность, и на хроматографической пластинке был бы обнаружен лишь немодифицированный [^{32} P]АМР. **ж)** Если бы основание было удалено или заменено на другое, исследователи обнаружили бы только [^{3} H]АМР. Наличие [^{3} H]ИМР указывает, что произошла замена А на I без удаления Н в положениях 2 и 8. Наиболее вероятным механизмом модификации при замене А на I является гидролитическое дезаминирование (см. рис. 22-34). **з)** CAG меняется на CIG. Этот кодон читается как CGG.

2. UUAUGUAU, UUGAUGUAU, CUUAUGUAU, CUCAUGUAU, CUAUGUAU, CUGAUGUAU, UUAUGUAC, UUGAUGUAC, CUUAUGUAC, CUCAUGUAC, CUAUGUAC, CUGAUGUAC

3. Нельзя. Почти все аминокислоты кодируются несколькими кодонами (например, существует шесть вариантов кодонов для лейцина), и поэтому каждый полипептид может быть закодирован несколькими способами. И все же для некоторых аминокислот существует лишь один кодон. Кроме того, несколько кодонов, кодирующих одну аминокислоту, часто имеют одни и те же нуклеотиды в двух из трех позиций. Таким образом, некоторые участки последовательности мРНК, кодирующие белки с известной аминокислотной последовательностью, можно определить с достаточно высокой точностью.

4. **а)** (5')CGACGGCGCGAAGUCAGGGGUGUUAAG(3'); **б)** Arg-Arg-Arg-Glu-Val-Arg-Gly-Val-Lys; **в)** Нет. Комплементарные антипараллельные нити в двойной спирали ДНК не идентичны в направлении 5'→3'. Из дуплекса РНК считывается лишь с одной конкретной нити. РНК-полимераза узнает только «правильную» нить и связывается с ней.

5. Для переноса метионина существует два типа молекул тРНК: тРНК^{fMet}, инициирующая синтез, и тРНК^{Met}, которая может встраивать остаток Met внутри полипептидной цепи. Только fMet-тРНК^{fMet} распознается инициаторным фактором IF-2 и подходит к инициаторному кодону AUG, находящемуся в Р-сайте рибосомы в инициаторном комплексе. Кодоны AUG внутри последовательности мРНК могут связывать только Met-тРНК^{Met}.

Глава 27

1. **а)** Gly-Gln-Ser-Leu-Leu-Ile; **б)** Leu-Asp-Ala-Pro; **в)** His-Asp-Ala-Cys-Cys-Tyr; **г)** Met-Asp-Glu у эукариот; fMet-Asp-Glu у бактерий.

6. Взять смесь UDP и UDC, скажем, в соотношении 5 : 1 и подействовать на нее полинуклеотидфосфорилазой. В результате должен получиться полимер, содержащий много триплетов UUU (Phe), меньше UUC (Phe), UCU (Ser) и CUU (Leu), значительно меньше UCC (Ser), CUC (Leu) и CCU (Pro) и совсем мало CCC (Pro).
7. Минимум 583 эквивалента АТР (по 4 на каждую присоединенную аминокислоту, но с учетом того, что происходит лишь 145 транслокаций). Для исправления каждой ошибки нужно 2 эквивалента АТР. Для синтеза гликогена нужно 292 эквивалента АТР. Дополнительная энергия, затрачиваемая на синтез β -глобина, отражает стоимость информационного содержания белка. Для синтеза белка из аминокислот клетке потребуется как минимум 20 активирующих ферментов, 70 рибосомных белков, 4 рРНК, 32 или более тРНК, одна молекула мРНК и 10 или более вспомогательных ферментов. В синтезе цепи ($\alpha 1 \rightarrow 4$)-гликогена из глюкозы участвуют лишь 4 или 5 ферментов (гл. 15).

8.

Кодоны глицина	Антикодоны
(5')GGU	(5')ACC, GCC, ICC
(5')GGC	(5')GCC, ICC
(5')GGA	(5')UCC, ICC
(5')GGG	(5')CCC, UCC

- а) 3'-концевой и средний; б) спаривание с антикодонами (5')GCC, ICC и UCC; в) в парах с антикодонами (5')ACC и CCC.
9. Только (а), (в), (д) и (ж); (б), (г) и (е) не могут быть результатом однонуклеотидной замены: для (б) и (е) требуется замена двух нуклеотидов, а для (г) — замена всех трех нуклеотидов.
10. Для Glu существует два кодона (GAA и GAG), а для Val — четыре кодона (GTT, GTC, GTA и GTG). Однонуклеотидная замена GAA на GTA или GAG на GTG могла бы привести к замене Glu на Val в серповидном гемоглобине. Гораздо менее вероятны замены двух нуклеотидов: превращение GAA в GTG, GTT и GTC или превращение GAG в GTA, GTT и GTC.
11. Изолейцин по структуре напоминает некоторые другие аминокислоты, особенно валин. Чтобы отличить изолейцин от валина в процессе аминоацилирования, нужен второй этап проверки. Гистидин не похож ни на какую другую аминокислоту, и его структура обеспечивает достаточную специфичность аминоацилирования и связывания тРНК.
12. а) Ala-тРНК-синтетаза распознает пару G^3-U^{70} в аминокислотном плече тРНК^{Ala}. б) Мутантная

тРНК^{Ala} будет вставлять остаток Ala при встрече с кодонами для Pro. в) Аналогичные последствия могла бы вызвать мутация тРНК^{Pro}, в результате которой она стала бы распознаваться и аминоацилироваться Ala-тРНК-синтетазой. г) Такие мутации вызвали бы инактивацию множества клеточных белков и привели бы к летальным последствиям для клетки. Этот пример отражает мощь естественного отбора, препятствующего изменениям генетического кода.

13. Лишь последняя присоединенная к полипептидной цепи аминокислота сохраняет ковалентную связь с тРНК, и, следовательно, она является единственным связующим звеном между полипептидом и кодирующей его мРНК. Исправление ошибки потребовало бы разрыва этой связи и привело бы к отрыву пептида от мРНК и преждевременной остановке синтеза.
14. Белок был бы доставлен в ЭР, а его дальнейший путь зависел бы от дополнительных сигналов. SRP связывается с N-концевой сигнальной последовательностью на ранних стадиях синтеза полипептида и направляет его вместе с рибосомой к рецепторам на ЭР. После синтеза белок переносится в просвет ЭР, так что NLS недоступна для белков, ответственных за транспортировку в ядро.
15. Триггерный фактор — это молекулярный шаперон, стабилизирующий несформированную и готовую к транслокации форму ProOmpA.
16. ДНК должна содержать не менее 5784 нуклеотидов; некоторые кодирующие последовательности вложены друг в друга или перекрываются.
17. а) Спираль удерживается вместе за счет гидрофобных и ван-дер-ваальсовых взаимодействий. б) R-группы 3, 6, 7 и 10 выступают слева, группы 1, 2, 4, 5, 8 и 9 — справа. в) Одна из возможных последовательностей следующая:

1 2 3 4 5 6 7 8 9 10
N-Phe-Ile-Glu-Val-Met-Asn-Ser-Ala-Phe-Gln-C

г) Возможная последовательность ДНК-дуплекса для этой аминокислотной последовательности:

Нематричная цепь

(5')-ТТТАТТГААГТААТГААТАГТГСАТТССАГ-(3')

| |

(3')-ААТААСТТСАТТАСТТАТСАСГТААГГТС-(5')

Матричная цепь

д) Phe, Leu, Ile, Met и Val. Все они гидрофобные, но это не все гидрофобные аминокислоты — здесь не хватает Trp, Pro, Ala и Gly. е) Tyr, His, Gln, Asn, Lys, Asp и Glu; все они гидрофильные, но Tyr меньше остальных. Однако это не все гидрофильные аминокислоты — здесь не хватает Ser, Thr и Arg.

ж) Отсутствие в смеси Т позволяет исключить кодоны, начинающиеся или заканчивающиеся на Т, т. е. исключить Туг, который обладает слабой гидрофильностью, и, что более важно, исключить два стоп-кодона — ТАА и TAG. Никакие другие аминокислоты при этом из набора NAN не исключаются. **з)** Неправильно свернутые белки обычно уничтожаются. Поэтому, если на основе синтетического гена синтезируется белок, который при электрофорезе формирует полосу с определенной молекулярной массой, скорее всего, этот белок правильно свернут. **е)** Сворачивание белка определяется не только водородными связями и ван-дер-ваальсовыми взаимодействиями. Есть множество причин, почему синтезированный на основе случайной нуклеотидной последовательности белок мог бы не сформировать четырехспиральную структуру. Например, структура изменилась бы при наличии водородных связей между гидрофильными боковыми цепями. Кроме того, не все последовательности имеют тенденцию образовывать α -спирали.

Глава 28

1. **а)** Уровень триптофансинтазы остается высоким, несмотря на присутствие триптофана. **б)** Уровень высокий. **в)** Уровень быстро снижается, предотвращая синтез дополнительного триптофана.
2. **а)** Конститутивная, слабая экспрессия оперона; большинство мутаций в операторе с большой вероятностью предотвращает связывание репрессора. **б)** Либо конститутивная экспрессия, как в (а), либо постоянная репрессия, если в результате мутации нарушена способность связывать лактозу и родственные вещества и, следовательно, отвечать на присутствие индуктора. **г)** Повышение или снижение экспрессии оперона (в условиях индукции) в зависимости от того, стал ли промотор в результате мутации больше или меньше похож на консенсусный промотор *E. coli*.
3. 7000 копий.
4. $8 \cdot 10^{-9}$ М, более чем в 10^5 выше константы диссоциации. При наличии в клетке 10 копий активного репрессора сайт связывания репрессора на операторе всегда занят.
5. **(а)–(д):** При всех условиях экспрессия генов *lac*-оперона снижается.
6. **а)** Ослабление аттенуации транскрипции. Рибосома, заканчивающая транскрипцию последовательности 1, больше не экранирует последовательность 2 и не блокирует ее транскрипцию. Последовательность 2 всегда доступна для спаривания с последо-

вательностью 3, что предотвращает образование аттенуатора. **б)** Усиление аттенуации транскрипции. Последовательность 2 менее эффективно связывается с последовательностью 3; аттенуаторы образуются чаще, даже если последовательность 2 не блокирована рибосомой. **в)** Аттенуация отсутствует; единственный механизм регуляции обеспечивается репрессором Тгр. **г)** Аттенуация перестает зависеть от тРНК триптофана и может стать зависимой от тРНК гистидина. **д)** Аттенуация происходит редко или не происходит вовсе. Последовательности 2 и 3 постоянно блокируют образование аттенуатора. **е)** Постоянная аттенуация транскрипции. Аттенуатор образуется всегда, независимо от наличия триптофана.

7. SOS-ответ не индуцируется, что делает клетку более чувствительной к повреждениям ДНК.
8. Каждая клетка бактерии имела бы жгутики, состоящие из флагеллина обоих типов, и была бы чувствительна к антителам, которые вырабатываются в ответ на оба типа белка.
9. Возможно, в процессе очистки полимеразы были потеряны необходимые для активности фермента диссоциируемые факторы (например, фактор специфичности, апалогичный σ -субъединице фермента *E. coli*).

10.

Белок Gal4

ДНК-связывающий домен Gal4	Активирующий домен Gal4
----------------------------	-------------------------

Генно-инженерный белок

ДНК-связывающий домен Lac-репрессора	Активирующий домен Gal4
--------------------------------------	-------------------------

Генно-инженерный белок не может связываться с участком связывания Gal4 в гене GAL (UASG), поскольку он не имеет ДНК-связывающего домена Gal4. Нужно таким образом модифицировать последовательность ДНК, с которой связывается Gal4p, чтобы она приобрела нуклеотидную последовательность, с которой обычно связывается Lac-репрессор (используя методы, описанные в гл. 9).

11. Метиламин; реакция включает атаку воды на углерод гуанидиновой группы в модифицированном аргинине.
12. Необходимая для развития яйца *bcd*-мРНК обеспечивается матерью. Яйцо нормально развивается даже в том случае, если оно имеет генотип *bcd*⁻/*bcd*⁻, при условии, что мать имеет один нормальный ген *bcd*, а аллель *bcd*⁻ является рецессивной. Однако взрослая женская особь с генотипом

bcd⁻/*bcd*⁻ стерильна, поскольку у нее нет нормальной копии *bcd* для передачи собственному потомству.

- 13. а)** Водородные связи образуются между белком и скелетом ДНК в позициях ДНК A106, A110, A118, T119 и T122, а также между белком и основаниями в позициях A106, T107, A118 и T119. Четыре последних нуклеотида непосредственно участвуют в распознавании последовательности ДНК. **б)** *Скелет* ДНК: A106–Arg²⁹⁰, A110–Ser²¹², A119–Arg¹⁹⁹, T119–Arg²⁰⁴, A122–Ser³⁰³. *Основания* ДНК: A106–Asn²⁵³, T107–Asn²⁵³, A118–Asn¹⁶³, T119–Asn¹⁶³. Asn, Glu, Gln, Lys и Arg очень часто образуют водородные связи с ДНК. В образовании водородных связей ТАТА-связывающим белком в основном задействованы остатки Arg и Asn.

в) ТАТАТАТА (остатки 103–110)

АТАТАТАТ (остатки 122–115)

ТАТА-связывающий белок узнает A106, T107/T119 и A118.

г) Гидрофобные взаимодействия очень многочисленны, многие из них происходят с участием гидрофобных поверхностей.

- 14. а)** Для экспрессии 10% (репрессии 90%) 10% репрессора должно связаться с индуктором, а 90% находится в свободном виде и может связываться с оператором. Воспользуемся уравнением 5-8 при $\theta = 0,1$ и $K_d = 10^{-4}$ М:

$$\theta = \frac{[\text{IPTG}]}{[\text{IPTG}] + K_d} = \frac{[\text{IPTG}]}{[\text{IPTG}] + 10^{-4} \text{ М}}$$

$$0,1 = \frac{[\text{IPTG}]}{[\text{IPTG}] + 10^{-4} \text{ М}}$$

так что

$$0,9[\text{IPTG}] = 10^{-5} \text{ или } [\text{IPTG}] = 1,1 \cdot 10^{-5} \text{ М}$$

Для экспрессии 90% с индуктором должно быть связано 90% репрессора, так что $\theta = 0,9$. Подставляя в уравнение 5-8 значения θ и K_d , получаем $[\text{IPTG}] = 9 \cdot 10^{-4}$ М. Таким образом, при изменении $[\text{IPTG}]$ примерно в 10 раз уровень экспрессии также изменяется примерно в 10 раз. **б)** Уровень белков до индукции низкий, он повышается в процессе индукции и уменьшается при прекращении синтеза и расщеплении белков. **в)** Как следует из

пункта (а), экспрессия *lac*-оперона не просто включается или выключается, следовательно, оперон не удовлетворяет характеристике А. Как следует из пункта (б), экспрессия *lac*-оперона ослабевает при удалении индуктора; следовательно, оперон не удовлетворяет характеристике Б. **г) GFP включен:** уровень экспрессии *rep^{ts}* и *GFP* высокий; *rep^{ts}* подавляет ОР_{lac}, так что LacI не синтезируется. *GFP выключен:* уровень экспрессии *LacI* высокий; LacI подавляет ОР_{lac}, так что *rep^{ts}* и *GFP* не синтезируются. **д)** Добавление IPTG переключает систему из состояния «GFP выключен» в состояние «GFP включен». IPTG действует только в присутствии LacI, поэтому он влияет только на состояние «GFP выключен». Добавление IPTG отменяет репрессию ОР_{lac} и приводит к повышению уровня экспрессии *rep^{ts}*, что выключает экспрессию *LacI* и повышает экспрессию *GFP*. **е)** Повышение температуры переводит систему из состояния «GFP включен» в состояние «GFP выключен». Тепло оказывает влияние только в присутствии *rep^{ts}*, т. е. только в состоянии «GFP включен». Тепло инактивирует *rep^{ts}* и отменяет репрессию ОР, что приводит к высокому уровню экспрессии *LacI*. Затем LacI действует на ОР_{lac}, подавляя синтез *rep^{ts}* и *GFP*. **ж) Характеристика А:** система нестабильна в промежуточном состоянии. В какой-то момент один репрессор оказывает более сильное влияние, чем другой, просто при случайных флуктуациях экспрессии. Это отключает экспрессию второго репрессора и фиксирует систему в одном из состояний. *Характеристика Б:* экспрессия одного репрессора подавляет синтез другого, поэтому система остается в одном и том же состоянии даже после удаления переключающих стимулов. **з)** Ни в какой момент времени ни одна клетка не демонстрировала промежуточного уровня экспрессии *GFP*, что подтверждает характеристику А. При промежуточной концентрации индуктора (X) некоторые клетки перешли в состояние «GFP включен», а другие еще нет и находятся в состоянии «GFP выключен». Никакого промежуточного состояния не существует. Бимодальный характер экспрессии при $[\text{IPTG}] = X$ вызван одновременным присутствием в смеси клеток в состоянии «GFP включен» и клеток в состоянии «GFP выключен».

АВС-переносчик: представитель большого семейства мембранных переносчиков, содержащих АТФ-связывающие домены (кассеты); перемещают через плазматическую мембрану различные субстраты, включая неорганические ионы, липиды и неполярные молекулы лекарств, используя в качестве источника энергии молекулы АТФ.

ADP (аденозиндифосфат): рибонуклеозид-5'-дифосфат; акцептор фосфатной группы в энергетическом метаболизме клетки.

АТФ (аденозинтрифосфат): рибонуклеозид-5'-трифосфат; донор фосфатной группы в энергетическом метаболизме клетки; осуществляет перенос химической энергии в метаболических путях; общее промежуточное соединение в сопряженных эндогенных и экзогенных реакциях.

АТРаза: фермент, гидролизующий АТФ до ADP и фосфата; обычно принимает участие в процессах, протекающих с затратой энергии.

АТФ-синтаза: ферментный комплекс, образующий АТФ из ADP и фосфата в процессе окислительного фосфорилирования во внутренней мембране митохондрий или в плазматической мембране бактерий, а также в процессе фотофосфорилирования в хлоропластах.

В-лимфоцит (В-клетка): клетка крови, ответственная за выработку антител.

cAMP-рецепторный белок: специфический регуляторный белок бактерий, контролирующий инициацию транскрипции генов ферментов, которые в условиях недостатка глюкозы позволяют клетке переходить на другие источники углерода; другое название — белок-активатор катаболизма.

С-концевой остаток: единственный аминокислотный остаток в полипептидной последовательности, имеющий свободную α -карбоксильную группу.

Escherichia coli (E. coli): распространенная бактерия, обитающая в тонком кишечнике позвоночных; один из хорошо изученных организмов.

GLUT: семейство мембранных белков, осуществляющих транспорт глюкозы.

Г-белки: семейство гетеротримерных GTP-связывающих белков, участвующих в передаче сигнала в клетку. Связывание лиганда с рецептором, сопряженным с G-белком, приводит к обмену GTP на GDP, благодаря чему белок получает возможность активировать следующий фермент сигнального пути. G-белки обладают собственной GTPазной активностью и, следовательно, инактивируют сами себя.

In situ: на месте, т. е. в естественном положении.

In vitro: «в стекле», т. е. в искусственных условиях, в пробирке.

In vivo: «в жизни», т. е. в живой клетке или организме.

NAD, NADP (никотинамидадениндинуклеотид (НАД), никотинамидадениндинуклеотидфосфат (НАДФ)): никотинамидсодержащие кофакторы, выполняющие функцию переносчиков атомов водорода и электронов в окислительно-восстановительных реакциях.

P/O-отношение: количество молей АТФ, образующихся в процессе окислительного фосфорилирования при восстановлении $\frac{1}{2} O_2$ (т. е. в расчете на пару электронов, переданных на O_2). При передаче электронов от NADH на O_2 P/O-отношение принято равным 2,5, а при передаче электронов от FADH на O_2 1,5 (в других учебниках 3,0 и 2,0 соответственно).

pH: отрицательный логарифм концентрации ионов водорода в водном растворе.

pK_a: отрицательный логарифм константы диссоциации кислоты.

R-группа: (1) обозначение алкильной группы; (2) иногда используется для обозначения заместителей в органических соединениях.

SELEX: метод быстрой идентификации последовательностей нуклеиновых кислот (обычно РНК), обладающих особыми каталитическими или лиганд-связывающими свойствами.

SH2-домен: белковый домен, прочно связывающийся с остатком тирозинфосфата в некоторых белках, таких как рецепторные тирозинкиназы, что инициирует образование белкового комплекса, принимающего участие в передаче сигнала.

Siglec: семейство лектинов клеточной поверхности, связывающих сialовую кислоту; содержат множество иммуноглобулин-подобных доменов.

SOS-ответ: координированная индукция множества разнообразных генов в клетках бактерий в ответ на серьезное повреждение клеточной ДНК.

STS-маркер: уникальная для данного локуса ДНК нуклеотидная последовательность, которую можно использовать для его идентификации.

Т-лимфоцит (Т-клетка): клетка крови, которая образуется в тимусе и принимает участие в клеточном иммунном ответе.

V_{max}: максимальная скорость ферментативной реакции, которая достигается при насыщении субстратом центра связывания в молекуле фермента.

А

Абсолютная конфигурация: конфигурация четырех разных заместителей у асимметрического атома углерода по сравнению с конфигурацией заместителей в D- и L-глицеральдегиде.

Автотроф: организм, самостоятельно синтезирующий сложные молекулы из простейших соединений углерода и азота, таких как диоксид углерода и аммиак.

Агонист: вещество (обычно гормон или нейромедиатор), связывание которого со специфическим рецептором вызывает физиологический ответ.

S-Аденозилметионин (adoMet): кофактор, участвующий в ферментативном переносе метильных групп.

Адипоцит: клетка животного, специализирующаяся на запасании жиров (триацилглицеринов).

Активатор: (1) ДНК-связывающий белок, усиливающий экспрессию (т. е. повышающий скорость транскрипции) одного или нескольких генов; (2) положительный модулятор аллостерического фермента.

Активация аминокислоты: АТР-зависимая ферментативная реакция образования эфирной связи между карбоксильной группой аминокислоты и 3'-гидроксильной группой соответствующей тРНК.

Активный (каталитический) центр: участок на поверхности фермента, в котором происходит связывание и каталитическое превращение молекулы субстрата.

Активный транспорт: перенос растворенных веществ через клеточную мембрану против градиента концентрации, происходящий с затратой энергии.

Актин: белок мышечных волокон, а также важный компонент цитоскелета многих эукариотических клеток.

Акцептор протонов: основание, анион, способный принимать протоны от донора.

Акцептор электронов: вещество, принимающее электроны при окислительно-восстановительной реакции.

Акцепторный контроль: регуляция скорости клеточного дыхания через изменение концентрации ADP, который служит акцептором фосфатных групп.

Алкалоз: метаболическое состояние, сопровождающееся снижением способности организма связывать гидроксид-ионы; обычно при этом увеличивается рН крови.

Аллостерический белок: белок (обычно состоящий из нескольких субъединиц) с несколькими центрами связывания лиганда, причем связывание лиганда в одном центре влияет на его связывание в других центрах.

Аллостерический фермент: регуляторный фермент, каталитическая активность которого изменяется в результате нековалентного взаимодействия со специфическим метаболитом (эффектором), связывающимся вне активного центра.

Аллостерический центр: специфический участок на поверхности молекулы аллостерического фермента, с которым связывается молекула модулятора (эффектора).

Альдоза: сахар, в молекуле которого карбонильный углерод находится в составе альдегидной группы на одном из концов углеродной цепи.

Аминоацил-тРНК: аминоацильное производное тРНК.

Аминоацил-тРНК-синтетазы: ферменты, катализирующие синтез аминоацил-тРНК с затратой энергии АТР.

α-Аминокислота: α-аминозамещенная карбоновая кислота, структурная единица пептидов и белков.

Аминотрансферазы (трансаминазы): ферменты, катализирующие перенос аминогрупп от α-аминокислот на α-кетокислоты.

Аммонотеллический организм: организм, выделяющий избыток азота в виде аммиака.

Амфиболический путь: метаболическая реакция, вовлеченная в процессы и катаболизма, и анаболизма.

Амфитропный белок: белок, обратимо связывающийся с клеточной мембраной и поэтому способный находиться как в цитозоле, так и в мембране.

Амфифильное соединение: соединение, содержащее полярные и неполярные участки.

Амфолит: вещество, способное выступать в роли и кислоты, и основания.

Амфотерное вещество: вещество, способное принимать и отдавать протоны и, следовательно, выступать в роли кислоты или основания в зависимости от условий.

Анаболизм: энергозатратная фаза промежуточного метаболизма, заключающаяся в биосинтезе клеточных компонентов из более простых предшественников.

Аналит: анализируемое вещество (например, в масс-спектрометрии).

Анаммокс: анаэробное окисление аммиака до молекулярного азота, протекающее с использованием нитрита в качестве акцептора электронов; осуществляется специализированными хемолитотрофными бактериями.

Анаплеротическая реакция: ферментативная реакция, поставляющая промежуточные соединения в цикл лимонной кислоты.

Анаэроб: организм, обитающий в бескислородной среде; облигатные анаэробы в присутствии кислорода погибают.

Ангидрид: продукт реакции конденсации двух карбоксильных или фосфатных групп, протекающей с выделением молекулы воды;

$R-X-O-X-R$ (X — атом углерода или фосфора).



Ангстрем (Å): единица длины. $1 \text{ Å} = 10^{-8} \text{ см}$. Используется при указании расстояний на атомном и молекулярном уровне.

Анионообменная смола: полимерная смола с фиксированными катионными группами; используется при разделении анионов методом ионной хроматографии.

Аномерный углерод: атом углерода в хиральном центре, возникающем при циклизации молекулы сахара с образованием полуацетала; например, карбонильный углерод в альдегидах и кетонах.

Аномеры: два стереоизомера одного сахара, различающиеся конфигурацией заместителей у карбонильного (аномерного) атома углерода.

Антагонист: молекула, мешающая физиологическому действию другой молекулы (агониста), в частности, связыванию гормона или нейромедиатора с рецептором.

Антибиотики: большая группа органических соединений, которые синтезируются и секретируются различными микроорганизмами и растениями, где, по-видимому, выполняют защитную функцию, и токсичны для других организмов.

Антиген: молекула, способная вызывать синтез специфических антител в организме позвоночных.

Антикодон: специфическая последовательность в молекуле тРНК, состоящая из трех нуклеотидов и комплементарная кодону определенной аминокислоты в последовательности мРНК.

Антипараллельная укладка: укладка двух линейных полимеров с противоположной полярностью, или ориентацией, цепей.

Антипорт: одновременный перенос (котранспорт) двух веществ через клеточную мембрану в противоположных направлениях.

Антитело: защитный белок, синтезируемый иммунной системой позвоночных. См. также Иммуноглобулин.

Апобелок: белковая часть молекулы белка без органических или неорганических кофакторов или простетических групп, которые могут быть необходимы для проявления его активности.

Аполипопротеин: белковая часть липопротеина.

Апоптоз: программируемая гибель клеток в ответ на внешний сигнал или команду собственных генов, выражающаяся в планомерном расщеплении собственного содержимого.

Апофермент: белковая часть фермента без органических или неорганических кофакторов или простетических групп, которые могут требоваться для проявления каталитической активности.

Аппарат (комплекс) Гольджи: комплекс мембранных органелл в эукариотических клетках, участвующий в посттрансляционной модификации белков и их секреции из клетки или включения в плазматическую мембрану и мембраны органелл.

Аптамер: олигонуклеотид, связывающийся специфическим образом с молекулярными мишенями; получают путем аффинных методов обогащения (метод SELEX).

Аррестины: семейство белков, связывающихся с фосфорилированными С-концевыми участками рецепторов, сопряженных с G-белками; предотвращают взаимодействие рецепторов с G-белками и тем самым останавливают передачу сигнала посредством этих рецепторов.

Архей: царства живых организмов; к ним относятся многие виды организмов, обитающие в экстремальных условиях повышенной солености и температуры или низкого значения pH.

Асимметрический атом углерода: атом углерода, связанный четырьмя ковалентными связями с четырьмя разными химическими группами; может существовать в двух различных тетраэдрических конфигурациях.

Ассимиляция углерода: последовательность реакций, в результате которой атмосферный CO_2 превращается в органические соединения.

Аттенуатор: последовательность РНК, участвующая в регуляции экспрессии некоторых генов; выступает в роли терминатора транскрипции.

Ауксин: растительный гормон роста.

Ауксотрофный мутант (ауксотроф): мутантный организм, потерявший способность синтезировать определенные молекулы и вынужденный получать их извне.

Аутофосфорилирование: в строгом смысле — фосфорилирование аминокислотных остатков белка, катализируемое самим белком; иногда фосфорилирование одной субъединицы гомодимера другой субъединицей.

Ацидоз: метаболическое состояние, сопровождающееся уменьшением способности организма нейтрализовать протоны; обычно при этом уменьшается pH крови.

Ацилфосфат: любая молекула с общей формулой $R-C(=O)-OPO_3^2-$.

Аэроб: организм, который обитает в воздушной атмосфере и для дыхания использует кислород в качестве конечного акцептора электронов.

Б

Бактериофаг (фаг): вирус, способный реплицироваться в бактериальной клетке.

Бактерии: царство живых организмов; бактерии окружены плазматической мембраной, но не имеют окруженных мембранами внутренних органелл и ядра.

Белая жировая ткань: нетермогенная жировая ткань с высоким содержанием триацилглицеринов, запаасаемых и высвобождаемых в ответ на гормональные сигналы. Перенос электронов в дыхательной цепи в митохондриях белой жировой ткани напрямую связан с синтезом АТР.

Белковый банк данных (PDB): международная база данных (www.rcsb.org/pdb), в которой собрана информация о трехмерной структуре большинства известных макромолекул.

Белок: макромолекула, состоящая из одной или нескольких полипептидных цепей, каждая из которых имеет определенную последовательность аминокислот, соединенных пептидными связями.

Бесконкурентный ингибитор: обратимый ингибитор, который связывается с фермент-субстратным комплексом, но не со свободным ферментом.

Библиотека ДНК: набор клонированных фрагментов ДНК.

Библиотека кДНК: библиотека ДНК, состоящая из синтезированных молекул кДНК, комплементарных всем молекулам мРНК определенного организма или типа клеток.

Биоанализ: аналитический метод определения количества биологически активного вещества (например, гормона) в образце с помощью количественного измерения активности этого вещества в пробирке.

Биоинформатика: компьютерный анализ биологических данных с помощью статистических, лингвистических, математических, химических и физических методов; такими биологическими данными часто выступают аминокислотные или нуклеотидные последовательности, а также структурные данные, результаты клинических испытаний и т. д.

Биомолекула: органическое соединение, присутствующее в живом организме и выполняющее физиологическую функцию.

Биоптерин: кофактор на основе птерина, участвующий в ферментативных окислительно-восстановительных реакциях.

Биосинтез *de novo*: путь синтеза биомолекулы (например, нуклеотида) из простых предшественников — альтернатива повторного использования метаболита.

Биосфера: вся живая материя нашей планеты, в том числе, в морях и в атмосфере.

Биотин: витамин, кофактор ферментов, участвующих в реакциях карбоксилирования.

Биоцитин: конъюгированная аминокислота, образующаяся за счет ковалентной (амидной) связи между остатком лизина и молекулой биотина.

Брожение (ферментация): неокислительное анаэробное расщепление питательного вещества (например, глюкозы), сопровождающееся выделением энергии; продуктами брожения являются лактат, этиловый спирт и другие соединения.

Бурая жировая ткань: термогенная жировая ткань с большим количеством митохондрий, содержащих разобщающий белок термогенин, который прерывает поток электронов между дыхательной цепью и синтезом АТР.

Буфер: раствор, который может препятствовать изменению pH системы; готовят из соответствующих оснований и кислоты (кислотно-основная пара, акцептор и донор протонов), взятых в молярном соотношении ~1.

В

Ван-дер-ваальсовы взаимодействия: слабые межмолекулярные взаимодействия, возникающие благодаря взаимной поляризации молекул.

Вектор: молекула ДНК, способная независимо реплицироваться в клетке хозяина; встраивание чужеродного фрагмента ДНК в вектор позволяет осуществить репликацию этого фрагмента; например, плаزمид или искусственная хромосома.

Векторный метаболизм: метаболические превращения, в результате которых происходит изменение локализации (но не химического состава) субстрата относительно плазматической мембраны или мембраны между двумя клеточными компартментами.

Вирусный вектор: ДНК вируса, измененная таким образом, что она может использоваться для переноса рекомбинантной ДНК.

Витамин: органическое соединение, необходимое некоторым видам организмов в небольшом количестве; обычно компонент кофермента.

Внеклеточный матрикс: сложная сеть гликозаминогликанов, протеогликанов и белков, расположенная непосредственно на внешней поверхности плазматической мембраны.

ческой мембраны; обеспечивает адгезию, распознавание и миграцию клеток.

Внепеченочные ткани: все ткани, кроме ткани печени; термин дополнительно подчеркивает важную роль печени в метаболизме.

Водородная связь: слабое электростатическое притяжение между электроотрицательным атомом (таким как кислород или азот) и атомом водорода, ковалентно связанным со вторым электроотрицательным атомом.

Возбужденное состояние: высокоэнергетическое состояние атома или молекулы; возникает при поглощении энергии света атомом или молекулой.

Восстанавливающий агент (восстановитель): донор электронов в окислительно-восстановительной реакции.

Восстанавливающий конец: конец полисахаридной цепи, на котором находится группа со свободным аномерным атомом углерода; этот концевой остаток может выступать в роли восстановителя.

Восстанавливающий сахар: молекула сахара, в которой есть карбонильный (аномерный) атом углерода, не участвующий в образовании гликозидной связи и поэтому подверженный окислению.

Восстановительный эквивалент: общий термин для обозначения электронов или эквивалентов электронов в форме атома водорода или гидрид-иона.

Восстановление флуоресценции после фотообесцвечивания (FRAP): количественный метод анализа диффузии компонентов мембраны (липидов или белков) в двойном слое.

Восстановление (полуреакция): присоединение электронов к атому или иону.

Время полужизни: время, за которое распадается половина данного вещества в системе.

Всасывание: процесс переноса веществ при пищеварении — из кишечника в кровь.

Вспомогательные пигменты: пигменты растений и фотосинтезирующих бактерий, под действием света в видимой области солнечного спектра (каротиноиды, ксантофиллы и фикобилины), которые дополняют функцию хлорофиллов по поглощению солнечной энергии.

Вторичная структура: локальная пространственная упаковка участка полипептидной или полинуклеотидной цепи.

Вторичный метаболизм: метаболические пути, приводящие к образованию специфических продуктов, содержащихся не во всех живых клетках.

Вторичный посредник (мессенджер): эффекторная молекула, синтезируемая в клетке в ответ на внешний сигнал (первичный посредник), такой как гормон.

Второе начало термодинамики: закон, утверждающий, что любые химические и физические процессы в замкнутой системе сопровождаются увеличением энтропии.

Вырожденность кода: возможность обозначения одного элемента (слова) в языке с помощью нескольких элементов (слов) другого языка; вырожденность генетического кода заключается в том, что некоторым аминокислотам соответствует несколько нуклеотидных триплетов.

Высокоэффективная жидкостная хроматография (ВЭЖХ, HPLC): автоматизированный хроматографический метод разделения веществ в условиях высокого давления; метод позволяет получать воспроизводимые результаты и разделять очень близкие по свойствам вещества.

Г

Гаметы: репродуктивные клетки с гаплоидным набором генов; сперматозоиды и яйцеклетки.

Ганглиозиды: сфинголипиды, содержащие в головке сложные олигосахаридные группы; преимущественно встречаются в нервной ткани.

Гаплоидная клетка: клетка с одним набором генетической информации, т. е. с одной хромосомой каждого вида.

Гаптен: небольшая молекула, которая при связывании с более крупной молекулой может вызывать иммунный ответ.

Гексоза: шестиуглеродный углевод (сахар).

Геликаза: фермент, катализирующий расхождение нитей ДНК перед репликацией.

Гем: железопорфириновая простетическая группа некоторых белков.

Гемовый белок: белок, содержащий гем в качестве простетической группы.

Гемоглобин: гемовый белок эритроцитов; переносчик кислорода.

Ген: участок хромосомы, кодирующий отдельную функциональную полипептидную цепь или молекулу РНК.

Ген-супрессор опухоли (антионкоген): ген белка, осуществляющего отрицательную регуляцию деления клетки; дефект обеих копий гена приводит к неконтрольному делению и опухолевой трансформации клетки.

Генетическая информация: наследственная информация, закодированная последовательностью нуклеотидных оснований в хромосомной ДНК или РНК.

Генетическая карта: схематичное представление расположения специфических последовательностей и генов на хромосоме.

Генетический код: набор триплетов ДНК (мРНК), кодирующих протеиногенные аминокислоты.

Геном: вся генетическая информация, закодированная в клетке или вирусе.

Геномика: область науки, изучающая геномы клеток и организмов.

Геномная библиотека: библиотека ДНК, содержащая фрагменты ДНК, отражающие всю (или почти всю) последовательность генома организма.

Генотип: генетическое содержание организма — в отличие от его физических характеристик (фенотипа).

Геометрические изомеры (цис/транс-изомеры): изомеры, различающиеся расположением заместителей относительно двойной связи.

Гепарансульфат: сульфатированный полимер, состоящий из чередующихся звеньев N-ацетилглюкозамина и уруновой кислоты (глюкуроновой или идуроновой кислоты); компонент внеклеточного матрикса.

Гепатоцит: основная клетка печени.

Гетеродуплекс ДНК: дуплекс ДНК, содержащий комплементарные нити, происходящие из двух разных молекул ДНК с похожими последовательностями; часто образуется как продукт генетической рекомбинации.

Гетерополисахарид: полисахарид, состоящий из нескольких типов моносахаридных звеньев.

Гетеротропный модулятор: аллостерический модулятор, отличный от обычного лиганда.

Гетеротропный фермент: аллостерический фермент, нуждающийся в модуляторе, отличном от обычного субстрата.

Гетеротроф: организм, нуждающийся в сложных органических молекулах (таких как глюкоза) в качестве источника питательных веществ и энергии.

Гиалуронат (гиалуронозная кислота): высокомолекулярный кислый полисахарид, обычно построенный из дисахаридных звеньев $\text{GlcUA}(\beta 1 \rightarrow 3)\text{GlcNAc}$; основной компонент внеклеточного матрикса, образующий крупные комплексы (протеогликаны) с белками и другими кислыми полисахаридами.

Гидроксония ион (H_3O^+): гидратированный протон.

Гидролазы: ферменты (протеазы, липазы, фосфатазы, нуклеазы), катализирующие реакции гидролиза.

Гидролиз: расщепление связи (например, ангидридной или пептидной) путем присоединения молекулы воды с образованием двух или большего числа продуктов.

Гидропатический индекс: шкала, отражающая относительную гидрофобность и гидрофильность химических групп.

Гидрофильность: наличие полярности или заряда, способствующее взаимодействию молекул или химических групп с водой (в том числе их растворению).

Гидрофобность: отсутствие полярности, препятствующее растворению молекул в воде.

Гидрофобные взаимодействия: взаимодействие неполярных групп молекул в водном растворе, обусловленное стремлением окружающих молекул воды перейти в наиболее устойчивое (разупорядоченное) состояние.

Гиперхромный эффект: значительное усиление поглощения света при 260 нм, возникающее при раскручивании (плавлении) двойной спирали ДНК.

Гипоксия: метаболическое состояние, вызванное недостатком кислорода.

Гистоны: семейство основных белков, прочно связанных с ДНК в хромосомах эукариотических клеток.

Гликан: то же, что полисахарид; полимер, состоящий из моносахаридных звеньев, соединенных гликозидными связями.

Гликогенез: процесс превращения глюкозы в гликоген.

Гликогенин: белок, инициирующий синтез цепей гликогена и катализирующий полимеризацию нескольких первых звеньев в каждой цепи до начала работы гликогенсинтазы.

Гликогенолиз: ферментативное расщепление запасенного (непищевого) гликогена.

Гликозаминогликан: гетерополисахарид, состоящий из двух чередующихся звеньев, одним из которых является N-ацетилглюкозамин или N-ацетилгалактозамин, а вторым — урунозная кислота (чаще глюкуронозная кислота); прежнее название — мукополисахарид.

Гликозидная связь: связь между сахаром и другой молекулой (обычно спиртом, пурином, пиримидином или сахаром) через атом кислорода (О-гликозидная связь) или азота (N-гликозидная связь).

Гликоконъюгат: гликопротеин или гликолипид, образованный из углеводного компонента, ковалентно связанного с белком или липидом.

Гликолиз: катаболический путь, в результате которого молекула глюкозы распадается на две молекулы пирувата.

Гликолипид: липид с углеводным компонентом.

Гликомика: системный анализ углеводного состава клетки или ткани, включая компоненты, связанные с белками или липидами.

Гликопротеин: белок с углеводным компонентом.

Глиоксилатный цикл: у бактерий и некоторых растений альтернативный вариант цикла лимонной кислоты, заключающийся в превращении ацетата в сукцинат и в итоге в новый углевод.

Глиоксисома: специализированная пероксисома, содержащая ферменты глиоксилатного цикла; содержится в клетках прорастающих семян.

Глицерофосфолипиды: амфифильные липиды на основе глицерина, в которых жирные кислоты присоединены сложноэфирной связью к атомам С1 и С2 глицерина, а полярные спирты — фосфодиэфирной связью к атому С3.

Глобулярные белки: растворимые белки глобулярной (сферической) формы.

Глюкогенные аминокислоты: аминокислоты, углеродный скелет которых может превращаться в глюкозу или гликоген в процессе глюконеогенеза.

Глюконеогенез: биосинтез углеводов из более простых предшественников (не сахаров), таких как оксалоацетат или пируват.

Гомеобокс: консервативная последовательность ДНК из 180 пар оснований, которая кодирует белковый домен многих белков, играющих регуляторную роль в процессах развития.

Гомеодомен: регуляторный белковый домен, определяющий сегментацию зародыша; кодируется гомеобоксом.

Гомеостаз: поддержание динамического стационарного состояния с помощью регуляторных механизмов, компенсирующих изменения, вызванные внешними стимулами.

Гомеотические гены: гены, регулирующие развитие сегментов зародыша дрозофилы; похожие гены обнаружены у большинства позвоночных.

Гомологичная генетическая рекомбинация: рекомбинация между двумя молекулами ДНК с похожей последовательностью, происходящая во всех клетках; у эукариот происходит в процессе митоза и мейоза.

Гомологичные белки: белки из разных организмов, имеющие похожие последовательности и функции (например, гемоглобины).

Гомополисахарид: полисахарид, состоящий из однотипных моносахаридных звеньев.

Гомотропный модулятор: аллостерический модулятор, идентичный нормальному лиганду.

Гомотропный фермент: аллостерический фермент, для которого субстрат играет одновременно роль модулятора.

Гормон: химическое соединение, синтезируемое в небольшом количестве эндокринными железами и переносимое кровью к другим тканям, функцию которых оно регулирует, выступая в роли посредника.

Грамм-моль: единица количества вещества, численно равна молекулярной массе этого вещества в граммах.

Грана: стопка тилакоидов (уплощенных мембранных мешочков или дисков) в хлоропластах.

Д

Дальтон: размерность атомной и молекулярной массы; 1 Да ($1,66 \cdot 10^{-24}$ г) соответствует массе атома водорода.

Двойная спираль: естественная конформация двух комплементарных антипараллельных нитей ДНК.

Двойной (липидный) слой: ориентированное расположение амфифильных молекул липидов, лежащее в основе структуры биологических мембран, когда углеводородные «хвосты» молекул направлены внутрь клетки, образуя сплошную неполярную поверхность.

Двойные обратные координаты (координаты Лай-нуивера–Берка): для более точного определения значений $V_{\max}$ и K_M вместо координат V_0 против $[S]$ используют координаты $1/V_0$ против $1/[S]$.

Двухкомпонентная сигнальная система: система передачи сигнала у бактерий и растений, содержащая рецепторную гистидинкиназу, которая в результате связывания с лигандом начинает фосфорилировать внутренние остатки гистидина, после чего катализирует перенос фосфорильной группы на второй компонент системы — регулятор отвста, который активирует транскрипцию гена или группы генов.

Двухосновная кислота: кислота, способная при диссоциации высвобождать два протона.

Дегидрогеназы: ферменты, катализирующие удаление двух атомов водорода из молекулы субстрата.

Дезаминирование: ферментативное удаление аминок групп из биомолекул, таких как аминокислоты или нуклеотиды.

Дезоксирибонуклеотиды: нуклеотиды, содержащие в качестве пентозы 2-дезоксид-Д-рибозу.

Делеционные мутации: мутации, возникающие в результате делеции (удаления) одного или нескольких нуклеотидов из гена или хромосомы.

Денатурация: полное или частичное разворачивание полипептидной цепи, белка или нуклеиновой кислоты, приводящее к потере биологической функции молекулы.

Десатуразы: ферменты, катализирующие введение двойной связи в углеводную часть молекулы жирной кислоты.

Десенсибилизация: универсальный процесс, заключающийся в ослаблении ответной реакции при длительном воздействии специфического стимула.

Десольватация: удаление гидратной оболочки, окружающей растворенное вещество в водном растворе.

Диализ: удаление малых молекул (низкомолекулярных веществ) из раствора макромолекул путем пропускания раствора через полупроницаемую мембрану.

Дикий тип: нормальный (немутированный) генотип или фенотип.

Диплоидная клетка: клетка с двойным набором генетической информации (две хромосомы каждого типа).

Дисахарид: углевод, состоящий из двух моносахаридных звеньев, связанных ковалентной связью.

Дисульфидная связь: ковалентная связь, возникающая в окислительных условиях между двумя остатками Cys одной или разных полипептидных цепей; при этом образуется цистин.

Дифференциальное центрифугирование: разделение клеточных органелл или других частиц разного размера, основанное на различии скорости седиментации при центрифугировании.

Дифференцировка клеток: превращение клеток-предшественников в специализированные клетки путем образования новых белков и РНК.

Дифференцировка: приобретение клеткой специфических структурных и функциональных особенностей в процессе роста и развития.

Диффузия: перемещение молекул вещества из области с более высокой концентрацией в область с более низкой концентрацией.

ДНК (дезоксирибонуклеиновая кислота): полинуклеотид со специфической последовательностью дезоксирибонуклеотидных звеньев, ковалентно связанных между собой 3',5'-фосфодиэфирными связями; хранилище генетической информации.

ДНК-лигаза: фермент, катализирующий образование фосфодиэфирной связи между 3'-концом одного фрагмента ДНК и 5'-концом другого.

ДНК-микрочип: набор фрагментов ДНК, расположенных определенным образом и иммобилизованных на твердой подложке, который используется для гибридизации с анализируемыми последовательностями ДНК.

ДНК-полимераза: фермент, катализирующий синтез ДНК из молекул дезоксирибонуклеозид-5'-трифосфатов на основе матрицы.

Домен: четко идентифицируемая структурная единица полипептида; домены могут выполнять независимые функции и упаковываться независимым образом.

Донор протонов: кислота или другое химическое соединение, отдающее протоны в кислотно-основной реакции.

Донор электронов: вещество, отдающее электроны в ходе окислительно-восстановительной реакции.

Дыхание: любой метаболический процесс, сопровождающийся потреблением кислорода и выделением углекислого газа.

Дыхательная цепь: цепь переноса электронов; последовательность белков аэробных клеток, переносящих электроны от субстратов на молекулярный кислород.

Ж

Жгуттик: клеточный отросток, используемый для передвижения; жгутики бактерий имеют гораздо более простую структуру, чем жгутики эукариот, которые напоминают реснички.

Железосерный белок: представитель большого семейства электронпереносящих белков, в котором функцию переноса электронов осуществляют ионы железа, связанные с атомами неорганической серы и атомами серы в остатках Cys в белке.

Железосерный белок Риске: железосерный белок, в котором в роли двух лигандов центрального иона железа выступают боковые цепи остатков His; участвует во многих процессах с переносом электронов, включая окислительное фосфорилирование и фотофосфорилирование.

Железосерный центр (кластер): простетическая группа некоторых белков, задействованная в переносе электронов; Fe^{2+} или Fe^{3+} связаны с неорганической серой и атомом серы в остатке Cys в белке.

Желчные соли: амфифильные производные стероидов, обладающие свойствами детергентов и участвующие в расщеплении и всасывании липидов.

Жидкостно-мозаичная модель: модель, рассматривающая биологическую мембрану в виде жидкого двойного липидного слоя с включенными в него белками; такой двойной слой обладает как структурной, так и функциональной асимметрией.

Жирная кислота: алифатическая карбоновая кислота, присутствующая в природных жирах и маслах; компонент гликолипидов и фосфолипидов мембран.

Жировая ткань: специализированная соединительная ткань, накапливающая большое количество триацилглицеринов; *см. также* Белая жировая ткань; Бурая жировая ткань.

З

Закон действия масс: скорость химической реакции пропорциональна произведению концентраций (или активностей) реагирующих веществ.

Закрытая система: не обменивается материей и энергией с окружающей средой.

Заменимые аминокислоты: аминокислоты, которые могут синтезироваться в организме человека и других позвоночных из простых предшественников

и поэтому не обязательно должны присутствовать в составе пищи.

Заместительная мутация: обусловлена заменой одного основания другим.

Зародышевая клетка: клетка животного, образующаяся на ранней стадии эмбриогенеза; может делиться митозом или в результате мейоза давать начало гаметам (сперматозоидам и яйцеклеткам).

Зеленый флуоресцентный белок (GFP): небольшой белок из морского организма, ярко флуоресцирующий в зеленой области видимого спектра. Гибридные белки с GFP часто применяются для определения внутриклеточной локализации белков методом флуоресцентной микроскопии.

Зимоген: неактивный предшественник фермента; например, предшественник пепсина — пепсиноген.

Зонд: меченый фрагмент нуклеиновой кислоты, содержащий участок, комплементарный искомому гену или геномной последовательности; используется для гибридизации.

И

Изменение свободной энергии (ΔG): количество свободной энергии, высвобождаемой ($\Delta G < 0$) или поглощаемой ($\Delta G > 0$) в реакции, протекающей при постоянной температуре и давлении.

Изменение энтальпии (ΔH): в химической реакции приблизительно равно разность энергии, затрачиваемой на разрыв старых связей, и энергии, выделяющейся при образовании новых связей.

Изомеразы: ферменты, катализирующие взаимные превращения между позиционными изомерами.

Изомеры: молекулы с одинаковой молекулярной формулой, но разным расположением химических групп.

Изопрен: 2-метил-1,3-бутадиен, повторяющаяся структурная единица изопреноидов (терпеноидов).

Изопреноид (терпеноид): представитель многочисленного класса природных веществ, синтезированных ферментативным путем из двух или большего числа изопреновых звеньев.

Изотермические условия: постоянная температура.

Изотопы: стабильные или радиоактивные атомы одного и того же элемента. Изотопы одного элемента имеют одинаковый заряд ядра, но разную атомную массу, они идентичные по химическим свойствам. Используются в качестве меток в химическом анализе.

Изоферменты: множественные формы фермента, катализирующие одну и ту же реакцию, но разли-

чающиеся по аминокислотной последовательности, субстратной специфичности, значению $V_{\max}$ или регуляторным свойствам.

Изоэлектрофокусирование: электрофоретический метод разделения макромолекул, основанный на различии значений их изоэлектрических точек.

Изоэлектрическая точка: значение pH, при котором суммарный электрический заряд молекулы равен нулю, так что молекула неподвижна в электрическом поле.

Иммунный ответ: способность организма позвоночного синтезировать антитела против чужеродных для организма макромолекул (антигенов).

Иммуноглобулин (антитело): белок, синтезированный в ответ на попадание в организм антигена и способный специфично связываться с ним.

Ингибирование по принципу обратной связи (ингибирование конечным продуктом): ингибирование активности фермента, действующего в начале метаболического пути, конечным продуктом всего пути.

Ингибирующий G-белок (G_i): тримерный GTP-связывающий белок, который при активации ассоциированным рецептором в плазматической мембране начинает *ингибировать* соседние мембранные ферменты, такие как аденилатциклаза; действие этого белка противоположно действию G_s .

Индуктор: сигнальная молекула, которая связывается с регуляторным белком и тем самым вызывает усиление экспрессии соответствующего гена.

Индукция: усиление экспрессии гена в ответ на изменение активности регуляторного белка.

Индукцированное соответствие: изменение конформации фермента при связывании субстрата, приводящее к переходу фермента в каталитически активное состояние; модель, описывающая изменение конформации любой макромолекулы в ответ на связывание лиганда: центр связывания макромолекулы начинает лучше соответствовать форме лиганда.

Инициаторный комплекс: комплекс рибосомы, мРНК и инициаторной Met-тРНК^{Met} или fMet-тРНК^{fMet}, готовый к стадии элонгации.

Инсерционная мутация: мутация, вызванная inserцией (встраиванием) одного или нескольких оснований в последовательность ДНК.

Инстерционная последовательность (IS-элемент): мобильные генетические элементы, обычно ограниченные с двух сторон специфическими инвертированными повторами.

Интегральный белок: белок, прочно связанный с мембраной благодаря гидрофобным взаимодействиям (в отличие от периферического белка).

Интегрин: представитель большого семейства гетеродимерных трансмембранных белков, опосредующих межклеточные контакты и контакты клеток с внеклеточным матриксом.

Интеркалирующий агент: вещество (мутаген), который встраивается в последовательность нуклеиновых оснований и вызывает сдвиг рамки считывания.

Интеркаляция: встраивание молекулы между ароматическими или плоскими кольцевыми молекулами, например между двумя основаниями нуклеиновой кислоты.

Интерфероны: класс гликопротеинов, обладающих противовирусной активностью.

Интрон: последовательность нуклеотидов между экзонами, которая транскрибируется, но удаляется до начала трансляции.

Информационные макромолекулы: биомолекулы, содержащие информацию в форме специфических последовательностей мономеров, например это могут быть белки, липиды, полисахариды и нуклеиновые кислоты.

Ионизирующая радиация: вид излучения (например, рентгеновское излучение), которое вызывает потерю электронов некоторыми молекулами, повышая их реакционную способность.

Ионное произведение воды (K_w): произведение концентраций H^+ и OH^- в чистой воде.

$$K_w = [H^+][OH^-] = 1 \cdot 10^{-14} \text{ при } 25^\circ C.$$

Ионный канал: интегральный белок, обеспечивающий регулярный транспорт специфических ионов через клеточную мембрану.

Ионообменная смола: полимерная смола, содержащая иммобилизованные заряженные группы; используется в хроматографии для разделения ионных соединений.

Ионофор: соединение, которое связывает один или несколько ионов металла и диффундирует через мембрану, перенося связанный ион.

К

Калория: размерность тепловой энергии. 1 кал равна количеству теплоты, необходимому для повышения температуры 1,0 г воды от 14,5 до 15,5 °C; 1 кал = 4,18 Дж.

Капсид: белковая оболочка вирусной частицы.

Карбанион: атом углерода, несущий отрицательный заряд.

Карбокатион: атом углерода, несущий положительный заряд.

Каркасный белок: некаталитический белок, который способствует образованию полиферментных комплексов, предоставляя ферментам несколько специфических участков связывания.

Карнитиновый челнок: механизм переноса жирных кислот в виде карнитиновых эфиров из цитозоля в митохондриальный матрикс.

Каротиноиды: жирорастворимые фотосинтетические пигменты, состоящие из изопреновых звеньев.

Катаболизм: стадия промежуточного метаболизма, заключающаяся в расщеплении молекул питательных веществ с выделением энергии.

Катенаны: соединения, в составе которых имеются два или более цикла, связанных между собой с помощью нековалентных топологических связей, напоминающих механическую связь между звеньями цепи.

Катехоламины: гормоны (например, адреналин), аминопроизводные катехола.

Катионообменная смола: нерастворимая полимерная матрица с фиксированными отрицательно заряженными группами; используется для хроматографического разделения катионных соединений.

«Качающиеся» пары: пары, образующиеся при сравнительно слабых взаимодействиях между основанием на 3'-конце одного кодона и комплементарным основанием на 5'-конце антикодона.

Кератины: нерастворимые защитные или структурные белки, состоящие из параллельных полипептидных цепей с α -спиральной или β -конформацией.

Кетогенные аминокислоты: аминокислоты, углеродный скелет которых может использоваться для синтеза кетонных тел.

Кетоз: аномально высокое содержание кетонных тел в крови, тканях и моче.

Кетоза: простой моносахарид, в котором карбонил представлен кетогруппой.

Кетонные тела: ацетоацетат, D- β -гидроксипутират и ацетон; водорастворимые энергетические молекулы, в норме выделяемые печенью, но присутствующие в избытке при голодании или некомпенсированном сахарном диабете.

Киназы: ферменты, катализирующие фосфорилирование некоторых молекул под действием АТФ.

Кинетика: раздел физической химии, изучающий химическую реакцию во времени, скорость химической реакции.

Кислородный долг: дополнительное количество кислорода, которое потребляется организмом в период после интенсивной физической нагрузки, по сравнению с потреблением в состоянии покоя.

Клон: потомство одной клетки.

Клонирование: способ получения большого количества идентичных молекул ДНК, клеток или организмов исходя из одной молекулы ДНК, одной клетки или одного организма.

Ковалентная связь: химическая связь, возникающая при обобществлении валентных двух атомов с образованием общей электронной пары.

Кодон: последовательность из трех нуклеотидов, кодирующая специфическую аминокислоту.

3'-Конец: в молекуле нуклеиновой кислоты там находится свободная ОН-группа рибозы или дезоксирибозы.

5'-Конец: в молекуле нуклеиновой кислоты там находится свободная фосфатная группа.

Консервативная замена: замена одного аминокислотного остатка в полипептидной цепи другим остатком с похожими свойствами, не приводящая к изменению свойств полимера, например, замена Glu на Asp.

Константа неустойчивости (диссоциации) (K_d): величина, обратная константе комплексообразования; характеризует способность к диссоциации на отдельные компоненты; например, диссоциация фермент-субстратного комплекса.

Константа диссоциации кислоты (K_a): характеризует реакцию диссоциации кислоты на протон и сопряженное основание.

Константа равновесия (K_{eq}): характеризует любую химическую реакцию; выражается через равновесные концентрации всех исходных веществ и всех продуктов реакции (реакция в состоянии равновесия) при заданной температуре и давлении.

Константа скорости: константа пропорциональности, связывающая скорость химической реакции с концентрациями реагирующих веществ.

Конститутивный фермент: фермент, необходимый клетке непрерывно и присутствующий в постоянной концентрации, например многие ферменты центральных метаболических путей.

Контиг: набор перекрывающихся клонов или протяженная последовательность, охватывающая целый фрагмент хромосомы.

Контроль транскрипции: регуляция синтеза белка путем регуляции образования его мРНК.

Контроль трансляции: регуляция синтеза белка путем регуляции скорости его трансляции на рибосомах.

Контурная длина: длина спиральной полимерной молекулы, измеренная вдоль оси спирали.

β -Конформация: растянутая, зигзагообразная укладка полипептидной цепи; часто реализуется как вторичная структура белка.

N-Концевой остаток: единственный аминокислотный остаток в составе полипептидной цепи, несущий свободную α -аминогруппу.

Кооперативность: способность фермента или другого белка изменять сродство к последующим присоединяемым молекулам лиганда после связывания первой молекулы; при положительной кооперативности связывание первой молекулы лиганда повышает сродство к следующим молекулам, а при отрицательной кооперативности — понижает его.

Короткий tandemный повтор (STR): многократный повтор двух или нескольких пар (обычно от 3 до 6) примыкающих друг к другу нуклеотидов в последовательности ДНК; используется в судебной медицине и патологической анатомии.

Кортикостероиды: стероидные гормоны, образующиеся в коре надпочечников.

Котранспорт: одновременный перенос через мембрану двух растворенных веществ одним и тем же переносчиком. См. также Антипорт; Симпорт.

Коэффициент активности: коэффициент пропорциональности между концентрацией растворенного вещества и его термодинамической активностью в растворе.

Коэффициент распределения: отношение концентраций вещества в двух несмешивающихся фазах, находящихся в равновесии.

Коэффициент седиментации: показатель скорости осаждения частицы при центрифугировании.

Кребса цикл: см. Цикл лимонной кислоты

Крестообразная структура ДНК (РНК): вторичная структура двунитевой РНК или ДНК, образующаяся в результате денатурации двойной спирали с последующим спариванием палиндромных повторов, приводящим к образованию крестов или шпилек.

Кривая титрования: зависимость значений рН от добавленного количества основания при титровании кислоты.

Кристы: складки внутренней мембраны митохондрий.

Круговорот азота: общий биогеохимический цикл азота. Разные формы биологически доступного азота циркулируют в природе, попадая в растения, в организмы животных, в микроорганизмы, свободный азот присутствует в атмосфере, а минеральные формы азота — в геосфере.

Культура ткани: метод длительного сохранения и выращивания (культивирования) клеток, извлеченных из многоклеточного организма, на искусственных питательных средах.

Л

Лайнуивера–Берка уравнение: алгебраическое преобразование уравнения Михаэлиса–Ментен, позволяющее путем экстраполяции более точно определить значения $V_{\max}$ и K_M .

$$1/V_0 = K_M/V_{\max}[S] + 1/V_{\max}$$

Левовращающий изомер: стереоизомер, вращающий плоскость поляризации плоскополяризованного света против часовой стрелки.

Лейкотриены: липиды, образующиеся в организме из арахидоновой кислоты; содержат 20-углеродную цепь. Относятся к эйкозаноидам. Игрют роль в патогенезе бронхиальной астмы (медиаторы бронхообструкции при БА).

Лейкоциты: белые кровяные клетки; число лейкоцитов характеризует состояние защитных сил организма (человека и животного).

Лейциновая застёжка-молния: структурный белковый мотив, необходимый для белок-белковых взаимодействий многих регуляторных белков эукариот; состоит из двух взаимодействующих α -цепей, в которых в каждой седьмой позиции расположен остаток лейцина.

Лектин: белок, который связывается с углеводом (обычно олигосахаридом) с очень высоким сродством и специфичностью и тем самым опосредует межклеточные взаимодействия.

Летальная мутация: инактивирует жизненно важную функцию клетки или организма.

Лиазы: ферменты, катализирующие удаление функциональной (химической) группы, приводящее к образованию двойной связи, или присоединение по двойной связи.

Лигазы: ферменты, катализирующие реакцию конденсации, в которой связь между двумя атомами образуется за счет использования энергии АТФ или другого макроэргического соединения.

Лиганд: небольшая молекула, специфическим образом связывающаяся с более крупной молекулой; например, гормон — лиганд специфического белкового рецептора.

Лидерная последовательность: короткая N-концевая последовательность белка или 5'-концевая последовательность РНК со специализированной направляющей или регуляторной функцией.

Лизис: разрушение плазматической мембраны или клеточной стенки (у бактерий), приводящее к высвобождению внутриклеточного содержимого и гибели клетки.

Лизосома: связанная с мембраной органелла эукариотической клетки; содержит разнообразные гидро-

литические ферменты и служит центром деградации и реутилизации ненужных в данный момент компонентов.

Лимитирующая стадия: (1) в общем случае — ферментативная реакция с максимальной энергией активации или с максимальной свободной энергией переходного состояния; (2) в частном случае — самая медленная стадия метаболического пути.

Лимфоциты: разновидность лейкоцитов; главные клетки иммунной системы; обеспечивают гуморальный иммунитет.

Липазы: ферменты, катализирующие гидролиз триацилглицеринов.

Липид: низкомолекулярное соединение, не растворимое в воде, обычно содержит остатки жирных кислот, стеринны или фрагменты изопреноидов.

Липидом: полный липидный состав клетки или ткани в определенных условиях.

Липкие концы: концы фрагментов ДНК с одинаковой или различной последовательностью с короткими комплементарными друг другу однонитевыми участками, облегчающими лигирование данных фрагментов.

Липоат (липоевая кислота): промежуточный переносчик атомов водорода и ацильных групп в реакциях дегидрогеназ α -кетокислот; витамин для некоторых микроорганизмов.

Липопrotein: липидно-белковый агрегат, с помощью которого липиды, не растворимые в воде, переносятся в крови; белковый компонент липопroteина называют аполипопroteinом.

Липосома: ограниченная двойным липидным слоем небольшая сферическая везикула, спонтанно образующаяся в суспензии фосфолипидов в водном буфере.

М

Макромолекула: молекулярная масса от нескольких тысяч до нескольких миллионов.

Макроэргические соединения: группа природных веществ, молекулы которых содержат богатые энергией (макроэргические связи); при гидролизе при стандартных условиях высвобождают энергию (уменьшается свободная энергия). Присутствуют во всех живых клетках.

Малая ядерная РНК (мяРНК): небольшая молекула РНК (обычно от 100 до 200 нуклеотидов), содержащаяся в ядре и участвующая в сплайсинге эукариотической мРНК.

Малая ядрышковая РНК (мякРНК): небольшая молекула РНК (обычно от 60 до 300 нуклеотидов), участвующая в химической модификации рРНК.

Матрикс: водное содержимое клетки или органеллы (например, митохондрии) с растворенными веществами.

Матрица: макромолекулярная форма, на основе которой синтезируется новая информационная макромолекула.

Матричная (информационная) РНК (мРНК): молекула РНК, комплементарная одной из нитей ДНК; переносит генетическую информацию от хромосом к рибосомам.

Матричная нить: нить нуклеиновой кислоты, на основе которой полимераза синтезирует комплементарную нить.

Мейоз: способ клеточного деления, в результате которого диплоидная клетка дает начало гаплоидным клеткам — гаметам.

Мембранный потенциал (V_m): разность электрических потенциалов на внутренней и внешней стороне биологической мембраны, которую можно измерить с помощью микроэлектрода; типичный мембранный потенциал находится в диапазоне от -25 мВ до -100 мВ (на мембранах вакуолей некоторых видов растений). Отрицательный знак потенциала означает, что на внутренней поверхности мембраны потенциал более отрицательный, чем снаружи.

Мембранный транспорт: перемещение полярных растворенных веществ через мембрану с помощью специфических мембранных белков (переносчиков).

Метаболизм: ферментативные превращения органических молекул в живом организме; все процессы катаболизма и анаболизма.

Метаболит: химическое промежуточное соединение в реакции метаболизма.

Метаболическая регуляция: механизм, позволяющий клетке противостоять изменению концентрации отдельных метаболитов при изменении потока по метаболическому пути в условиях метаболического контроля.

Метаболический контроль: механизм, позволяющий изменить поток метаболитов в метаболическом пути в соответствии с изменением условий.

Метаболом: полный набор всех низкомолекулярных метаболитов (промежуточных соединений, сигнальных молекул, вторичных метаболитов), присутствующих в данной клетке в конкретных условиях.

Метаболом: надмолекулярный комплекс ферментов, выполняющих определенные метаболические функции, и участок клеточной структуры, на котором этот комплекс локализован.

Металлопротенин: белок с ионом металла в качестве простетической группы.

Метамерия: сегментарное строение тела, например, у насекомых.

Миграция точки ветвления: перемещение точки ветвления разветвленной ДНК, образованной двумя молекулами ДНК с идентичной последовательностью.

Микро-РНК: малые молекулы РНК (от 20 до 25 нуклеотидов после завершения процессинга), участвующие в подавлении экспрессии генов путем ингибирования трансляции и/или расщепления соответствующей мРНК.

Микросомы: мембранные везикулы, образующиеся при фрагментации эндоплазматического ретикула эукариотической клетки; выделяются методом дифференциального центрифугирования.

Микротельца: связанные с мембраной цитоплазматические везикулы, в которых содержатся ферменты, участвующие в образовании и разрушении пероксидов (перекисей); к ним относятся пероксисомы, лизосомы и глиоксисомы.

Микротрубочки: тонкие трубочки, собранные из двух типов глобулярных субъединиц тубулина; содержатся в ресничках, жгутиках, центросомах и других двигательных и сократительных структурах клетки.

Микрофиламенты: тонкие нити актина, содержащиеся в цитоплазме эукариотических клеток; выполняют структурную и двигательную функции.

Миозин: фибриллярный белок, основной компонент толстых филаментов скелетных мышц и актомиозиновых комплексов.

Миофибрилла: структурный элемент тонких и толстых филаментов мышечных волокон.

Миоцит: клетка мышечной ткани.

Митоз: многостадийный процесс в эукариотической клетке, приводящий к репликации хромосом и делению клетки.

Митохондрия: ограниченная двумя мембранами органелла эукариотической клетки; энергетическая станция клетки — обеспечивает энергией синтез АТФ; содержит ферментативный аппарат для осуществления цикла лимонной кислоты, окисления жирных кислот, переноса электронов и окислительного фосфорилирования.

Михаэлиса константа (K_M): равна концентрации субстрата, при которой скорость V ферментативной реакции составляет половину максимальной скорости V_{max} .

Михаэлиса–Ментен кинетика: кинетика ферментативной реакции, описываемая гиперболической зависимостью начальной скорости реакции от концентрации субстрата.

Михаэлиса–Ментен уравнение: уравнение гиперболы; описывает зависимость начальной скорости реакции V_0 от концентрации субстрата $[S]$, наблюдающуюся в случае многих ферментативных реакций:

$$V_0 = V_{\max}[S]/(K_M + [S]).$$

Мицелла: агрегат амфифильных молекул в воде, в котором неполярные части молекул направлены внутрь, а полярные обращены наружу, образуя внешнюю поверхность, контактирующую с водной фазой.

Модулятор: метаболит, который связывается с аллостерическим центром фермента и изменяет его каталитические свойства.

Молчащая мутация: не приводит к видимым изменениям биологической активности продукта данного гена.

Моль: масса вещества в граммах, численно равная его молекулярной массе.

Молярный раствор: (водный) раствор, содержащий 1 моль вещества в 1000 мл раствора.

Моноклональные антитела: продуцируются одним клоном клеток по гибридной технологии; моноклональные антитела идентичны и направлены против одного эпитопа целевого антигена.

Моносахарид: углевод, состоящий из единственного сахарного звена.

Монослой: одинарный слой правильно ориентированных липидных молекул.

Моноцистронная мРНК: мРНК, которая может быть транслирована в один-единственный белок.

Мотив: любой характерный вариант расположения элементов вторичной структуры белка, встречающийся в одном или нескольких белках; мотив может быть простым или сложным и может распространяться на весь белок или только на его часть; то же, что укладка или супервторичная структура.

Мутазы: ферменты, катализирующие изменение расположения функциональных групп в молекуле.

Мутаротация: изменение оптического вращения, сопровождающее взаимные превращения α - и β -аномерных форм моносахаридов.

Мутация: стойкое, т. е. наследуемое, изменение гено-типа под влиянием внешней или внутренней среды.

Н

Насыщенная жирная кислота: в углеродном скелете нет двойных связей.

Нативная конформация: биологически активная конформация макромолекулы.

Негемовые железосодержащие белки: содержат железо, но не содержат порфиринового кольца; обыч-

но участвуют в окислительно-восстановительных реакциях.

Незаменимые аминокислоты: не синтезируются в организме человека (и других позвоночных) и должны поступать в организм с пищей.

Незаменимые жирные кислоты: полиненасыщенные жирные кислоты, которые синтезируются растениями, но не синтезируются в организме человека; необходимый компонент пищевого рациона человека.

Нейромедиатор: низкомолекулярное соединение (обычно азотсодержащее), секретируемое в аксонных окончаниях (терминалях) нейрона и связывающееся со специфическим рецептором следующего нейрона; осуществляет передачу нервного импульса.

Нейрон: клетка нервной ткани, специализирующаяся на проведении нервного импульса.

Некодирующая РНК (нкРНК): не кодирует информацию для синтеза белкового продукта.

Ненасыщенная жирная кислота: жирная кислота с одной или несколькими двойными связями.

Неорганическая пирофосфатаза: фермент, гидролизующий молекулу неорганического фосфата с образованием пирофосфата.

Неполярное вещество: гидрофобное вещество, плохо растворяется в воде.

Нециклический поток электронов: индуцируемый светом электронный транспорт от молекулы воды к NADP^+ в кислородзависимых реакциях фотосинтеза; протекает с участием фотосистем I и II.

Низкоэнергетические фосфатные соединения: фосфорилированные соединения со сравнительно низкой стандартной энергией гидролиза.

Нингидриновая реакция: цветная реакция, происходящая между аминокислотами или пептидами и нингидрином при нагревании; используется для качественного и количественного определения аминокислот и пептидов.

Нитрогеназный комплекс: ферментативная система, способная восстанавливать атмосферный азот до аммиака в присутствии АТФ.

Нонсенс-кодон (бессмысленный кодон или стоп-кодон): один из триплетов оснований ДНК (UAG, UAA, UGA), который не кодирует аминокислоты; терминатор трансляции — поэтому иногда называют кодон-терминатором.

Нонсенс-мутация: точечная мутация, приводящая к появлению стоп-кодона и преждевременной остановке синтеза полипептидной цепи.

Нонсенс-супрессор: мутантный ген тРНК, кодирующий молекулу с измененным антикодоном.

Нуклеазы: ферменты, гидролизующие межнуклеотидные (фосфодиэфирные) связи в нуклеиновых кислотах.

Нуклеиновые кислоты: природные полинуклеотиды, звенья которых образуют специфические последовательности и связаны между собой фосфодиэфирными связями; ДНК и РНК.

Нуклеозид: соединение, состоящее из пуринового или пиримидинового основания, ковалентно связанного с пентозой.

Нуклеозиддифосфаткиназа: фермент, катализирующий перенос концевой фосфатной группы нуклеозид-5'-трифосфата на нуклеозид-5'-дифосфат.

Нуклеозиддифосфатсахара: молекула, напоминающая кофермент и участвующая в ферментативном синтезе полисахаридов и производных сахаров.

Нуклеозидмонофосфаткиназа: фермент, катализирующий перенос концевой фосфатной группы АТР на нуклеозид-5'-монофосфат.

Нуклеоид: означает «подобный ядру»; компартмент неправильной формы внутри клетки прокариот, в котором находится генетический материал; геном бактерий.

Нуклеоплазма (ядерный матрикс): часть содержимого эукариотической клетки, окруженная ядерной мембраной.

Нуклеосома: структурная единица хроматина у эукариот; состоит из нити ДНК, обернутой вокруг гистоновой сердцевины.

Нуклеотид: фосфорный эфир нуклеозида по одной из гидроксильных групп пентозы.

Нуклеофил: богатая электронами функциональная группа, способная отдавать электроны электрондефицитным атомам (электрофилам); проявляет активность в бимолекулярных реакциях замещения.

0

Облегченная диффузия (пассивный транспорт): диффузия полярных веществ через биологическую мембрану с помощью белка-переносчика.

Обратимый ингибитор: ингибитор, связывающийся с ферментом обратимым образом, так что при удалении ингибитора активность фермента восстанавливается.

Обратная (реверсивная) мутация: возвращающая организму исходный фенотип.

Обратная транскриптаза: РНК-зависимая ДНК-полимераза ретровирусов; способна синтезировать ДНК, комплементарную последовательности РНК.

Общий кислотно-основной катализ: катализ, сопровождающийся переносом протонов от молекул (к молекулам), отличным от воды.

Одноосновная кислота: при диссоциации образуется один протон.

Окисление (полуреакция): отдача электронов атомом или ионом.

α -Окисление: реакция окисления β -метилованных жирных кислот в пероксисомах.

β -Окисление: окислительное расщепление жирных кислот до ацетил-СоА путем последовательного окисления атома β -углерода.

ω -Окисление: альтернативный путь окисления жирных кислот, при котором сначала происходит окисление атома углерода, максимально удаленного от карбоксильной группы.

Окислитель: акцептор электронов в окислительно-восстановительной реакции.

Окислительно-восстановительная пара (редокс-пара): соединение-донор электронов и соответствующая ему окисленная форма, например NADH/NAD^+ .

Окислительно-восстановительная реакция: реакция, в которой электроны переходят от донора к акцептору.

Оксигеназы: ферменты, катализирующие реакции, в которых атомы кислорода непосредственно включаются в продукты реакции, образуя гидроксильную или карбоксильную группу. В реакциях, катализируемых *монооксигеназами*, происходит встраивание лишь одного атома кислорода, а другой восстанавливается до H_2O . В реакциях, катализируемых *диоксигеназами*, в продукт встраиваются два атома кислорода.

Оксидазы со смешанной функцией: ферменты (например, монооксигеназы), катализирующие окисление двух восстановителей: обычно один — NADPH , а другой — субстрат. При этом один атом кислорода включается в продукт реакции, а другой восстанавливается до H_2O . Для переноса электронов от NADPH на O_2 эти ферменты часто используют цитохром P450.

Оксидазы: ферменты, катализирующие реакции окисления, в которых в качестве акцептора электронов выступает молекулярный кислород, но атомы кислорода не включаются в конечные продукты.

Олигомер: короткий полимер, состоящий не более чем из 50 аминокислот, нуклеотидов или сахаров.

Олигомерный белок: состоит из двух или нескольких идентичных полипептидных цепей.

Олигонуклеотид: короткая нуклеотидная последовательность (обычно не более 50 оснований).

Олигопептид: последовательность из нескольких аминокислотных остатков, соединенных пептидными (амидными) связями.

Олигосахарид: последовательность моносахаридных звеньев, соединенных гликозидными связями.

Омыление: щелочной гидролиз триацилглицеринов с образованием жирных кислот.

Онкоген: ген, кодирующий белок, который при нарушении регуляции может вызвать быстрое и неконтролируемое деление клетки, приводящее к развитию опухоли. Мутации, вызывающие активацию онкогена, увеличивают риск превращения клетки в раковую.

Оператор: регулярный участок ДНК, контролирующей экспрессию гена или группы генов путем взаимодействия с белком-репрессором.

Оперон: функциональная единица генома прокариот (участок ДНК), объединенная под общим промотором.

Оптимум pH: диапазон значений pH, в котором фермент демонстрирует максимальную каталитическую активность.

Оптическая активность: способность вещества вращать плоскость поляризации плоскополяризованного света.

Органеллы: ограниченные мембранами структуры эукариотических клеток, содержащие ферменты и другие компоненты со специфическими функциями.

Ортологи: гены из разных организмов с выраженным сходством последовательностей и функциональных связей.

Осмос: диффузия вещества, обычно воды (в общем случае — растворителя) через полупроницаемую мембрану из раствора с меньшей концентрацией растворенного вещества в раствор с большей концентрацией растворенного вещества.

Осмотическое давление: давление на полупроницаемую мембрану, обусловленное диффузией растворителя из раствора с меньшей концентрацией растворенного вещества в раствор с большей концентрацией.

Основная догма молекулярной биологии: основополагающий принцип молекулярной биологии, заключающийся в том, что поток генетической информации направлен от ДНК через РНК к белку.

Основное (невозбужденное) состояние (в отличие от возбужденного состояния): устойчивое состояние атома или молекулы.

Основной обмен: один из показателей интенсивности (скорости) обмена веществ и энергии в организме в условиях теплового комфорта натошак (в состоянии полного покоя спустя длительное время после приема пищи).

Открытая рамка считывания: непрерывный ряд неперекрывающихся нуклеотидных кодонов в молекуле ДНК или РНК, не содержащий стоп-кодона.

Открытая система: система, обменивающаяся с окружающей средой материей и энергией.

Отношение действующих масс (Q): Для реакции $aA + bB \rightleftharpoons cC + dD$

$$Q = \frac{[C]^c [D]^d}{[A]^a [B]^b}$$

Отрицательная кооперативность: свойство некоторых субъединичных ферментов и белков, заключающееся в том, что связывание лиганда или субстрата с одной субъединицей препятствует его связыванию с другой субъединицей.

Отрицательная обратная связь: способ регуляции биохимического пути, при котором продукт реакции ингибирует протекание более ранних стадий пути.

Отстающая нить: нить ДНК, которая в процессе репликации синтезируется в противоположном направлении к направлению движения репликативной вилки.

Ошибочное спаривание: образование пар между парами оснований, отличное от уотсон-криковских пар.

П

Палиндром: участок двунилевой ДНК, в котором последовательности оснований в двух нитях симметричны относительно некоторой оси.

Парадигма: совокупность фундаментальных научных представлений и терминов, принимаемая научным сообществом; в биохимии — экспериментальная модель или пример.

Патогенный организм: организм, вызывающий заболевание.

Пентоза: простой сахар, углеродный скелет которого состоит из пяти атомов углерода.

Пентозофосфатный (гексозомонофосфатный) путь: метаболический путь у большинства организмов, заключающийся во взаимных превращениях гексоз и пентоз; служит источником восстановительных эквивалентов (NADPH) и пентоз для реакций биосинтеза; начинается от глюкозо-6-фосфата и проходит через образование 6-фосфоглюконата.

Пептид: две или более аминокислоты, соединенные пептидной связью.

Пептидазы: ферменты, гидролизующие пептидную связь.

Пептидилтрансфераза: рибозим, синтезирующий пептидную связь в белках; часть рРНК большой субъединицы рибосомы.

Пептидная связь: амидная связь, образующаяся между α -аминогруппой одной аминокислоты и α -карбоксильной группой другой аминокислоты с удалением молекулы воды.

Пептидное картирование: характерная двумерная картина (на бумаге или в геле) при разделении смеси пептидов, образовавшихся в результате частичного гидролиза белка.

Пептидогликан: основной компонент клеточной стенки бактерий; обычно состоит из параллельных цепей гетерополисахаридов, удерживаемых поперечными сшивками из коротких пептидных фрагментов.

Первичная структура: последовательность звеньев в биополимере.

Первичный транскрипт: образующаяся в результате транскрипции незрелая РНК, подвергающаяся далее посттранскрипционному процессингу.

Первое начало термодинамики: закон, утверждающий, что в любом процессе общая энергия системы остается постоянной.

Передача сигнала (сигнальная трансдукция): усиление внешнего сигнала (химического, механического или электрического) и его превращение в клеточный ответ.

Перенос электронов: перемещение электронов от донора к акцептору, например, от субстратов на кислород через переносчиков в дыхательной (электрон-транспортной) цепи.

Переносчик электронов: белок (флавопротеин или цитохром), способный обратимо принимать и отдавать электроны; участвует в переносе электронов от органических питательных веществ на кислород или другие конечные акцепторы.

Переносчики (транспортёры, пермеазы): пронизывающие плазматическую мембрану белки, которые переносят через нее специфические питательные вещества, метаболиты, ионы или другие белки.

Перепрограммирование трансляции: программируемое изменение рамки считывания в процессе трансляции мРНК на рибосомах.

Переходное состояние: активированное состояние молекулы, претерпевшей частичные превращения в химической реакции; высшая точка координаты реакции.

Периферические белки: белки, слабо или обратимо связанные с плазматической мембраной водородными связями или электростатическими взаимодействиями; обычно при отделении от мембраны растворяются в водной среде.

Пероксисома: связанная с мембраной органелла эукариотической клетки; содержит ферменты, образующие и разрушающие пероксиды.

Петли ДНК: в результате взаимодействия между белками, связанными в удаленных друг от друга участках ДНК, промежуточные участки ДНК способны образовывать петли.

Пираноза: простой сахар, содержащий шестичленное пирановое кольцо.

Пиридиннуклеотид: нуклеотидный кофермент, содержащий производное пиридина никотинамид; NAD или NADP.

Пиридоксальфосфат: кофермент, содержащий витамин пиридоксин (витамин B₆); участвует в реакциях с переносом аминогрупп.

Пиримидин: азотсодержащее гетероциклическое основание, содержащееся в нуклеотидах и нуклеиновых кислотах.

Пиримидиновый димер: димер, образующийся в результате ковалентного взаимодействия двух соседних остатков пиримидина в ДНК; возникает под действием УФ-излучения; наиболее распространены тиминовые димеры.

Пищеварение: ферментативное расщепление основных компонентов пищи до простых веществ в желудочно-кишечном тракте.

Плазмалоген: фосфолипид, в котором в положении C1 остатка глицерина находится остаток алифатического спирта, присоединенный простой эфирной связью.

Плазматическая мембрана: внешняя мембрана, окружающая цитоплазму клетки.

Плазида: внехромосомная, способная реплицироваться автономно небольшая кольцевая молекула ДНК; используется в генной инженерии.

Пластида: самореплицирующаяся органелла растительной клетки, может дифференцироваться в хлоропласт.

Плектонемическая спираль: структура биополимера, в которой одна нить обвивается вокруг другой простым и регулярным образом.

Плотность супервитков: количество дополнительных витков в спиральной молекуле (такой как ДНК) по сравнению с количеством витков в релаксированной молекуле.

β-Поворот: участок белковой последовательности, образованный четырьмя аминокислотными остатками, заставляющий полипептидную цепь повернуть в обратном направлении; элемент вторичной структуры белка.

Поли(А)-«хвост»: последовательность остатков аденозина на 3'-конце многих молекул мРНК в эукариотических клетках и некоторых бактериях.

Поликлональные антитела: гетерогенный пул антител, образованных разными В-лимфоцитами в ответ на действие антигена; разные антитела в пуле распознают разные части молекулы антигена (эпитопы).

Полилинкер: короткая, часто синтетическим образом полученная последовательность ДНК, содержащая сайты узнавания для нескольких рестрикционных эндонуклеаз.

Полимеразная цепная реакция (ПЦР): лабораторный метод, заключающийся в многократной амплификации специфической последовательности ДНК.

Полиморфизм: существование различных, но полностью функциональных вариантов белка/гена в популяции организмов.

Полиморфизм длины рестрикционных фрагментов: вариации длины рестрикционных фрагментов, содержащих специфические последовательности ДНК, среди индивидуумов в популяции; результат редких изменений в ДНК, создающих или уничтожающих узнаваемые рестриктазами специфические последовательности.

Полиморфизм последовательности: любые вариации геномной последовательности (замены нуклеотидов, инсерции, делеции, перестановки), позволяющие выявить одну группу индивидуумов в популяции или различить организмы разных видов.

Полиморфизм одного нуклеотида (SNP): замена пары нуклеотидов, позволяющая отличить одну особь от другой или выделить группу особей в популяции.

Полиненасыщенная жирная кислота: жирная кислота, имеющая несколько двойных связей, обычно несопряженных друг с другом.

Полинуклеотид: последовательность ковалентно связанных нуклеотидов, в которой 3'-гидроксил пентозы одного нуклеотидного остатка связана фосфодиэфирной связью с 5'-гидроксильной пентозой соседнего остатка.

Полипептид: длинная последовательность аминокислотных остатков (обычно до 10 000 Да), связанных пептидными связями.

Полисахарид: линейный или разветвленный полимер, состоящий из моносахаридных звеньев, связанных гликозидными связями.

Полисома (полирибосома): комплекс молекулы мРНК с двумя или большим числом рибосом.

Полиферментная система (комплекс): группа функционально взаимосвязанных ферментов в метаболическом пути.

Полицистронная мРНК: матрица для трансляции двух или большего числа белков.

Положительная кооперативность: свойство субъединиц белковой молекулы, заключающееся в том, что связывание первой молекулы лиганда или субстрата с одной субъединицей облегчает связывание следующих молекул с другими субъединицами.

Полярная молекула: гидрофильное вещество, хорошо растворяется в воде.

Полярность: (1) в химии — неравномерное распределение электронов в молекуле; полярные молекулы обычно хорошо растворяются в воде; (2) в молекулярной биологии — направление от 5'-конца нуклеиновой кислоты к 3'-концу и наоборот.

Порфирин: комплекс азотистых соединений, содержащих четыре замещенных пиррола, объединенных в кольцо посредством ковалентных связей; часто в центральной позиции комплекса связывается атом металла.

Порфирия: наследственное заболевание, связанное с дефицитом одного или нескольких ферментов, участвующих в синтезе порфиринов.

Порядок зацепления: показатель, определяющий, сколько раз одна замкнутая кольцевая нить ДНК пересекается с другой нитью; топологический параметр, отражающий степень скрученности ДНК.

Посттранскрипционный процессинг: ферментативные модификации первичного транскрипта, приводящие к образованию функциональных мРНК, тРНК, рРНК и многих других видов РНК.

Посттрансляционная модификация: ферментативная модификация полипептидной цепи после трансляции мРНК.

Потенциал переноса групп: характеризует способность соединения отдавать активированную группу (например, фосфатную или ацильную); обычно это стандартная свободная энергия гидролиза.

Потенциал фосфорилирования (ΔG_p): реальное изменение свободной энергии гидролиза АТФ в нестандартных условиях, что обычно для клетки.

Правовращающий изомер: стереоизомер, вращающий плоскость плоскополяризованного света по часовой стрелке.

Праймаза: фермент, катализирующий образование РНК-олигонуклеотидов, которые используются ДНК-полимеразами в качестве праймеров.

Праймер: короткий олигомер (например, из сахарных или нуклеотидных остатков), к которому фермент достраивает следующие мономерные звенья.

Праймирование: (1) фосфорилирование аминокислотного остатка, который становится центром связывания и контрольной точкой для фосфорилирования других остатков в том же белке; (2) синтез короткого нуклеотида, к которому ДНК-полимеразы могут добавлять дополнительные нуклеотиды при репликации ДНК.

Праймосома: ферментный комплекс, синтезирующий праймеры для синтеза отстающей нити ДНК при репликации.

Проекционные формулы (формулы Фишера):

способ изображения молекул, позволяющий отразить конфигурацию заместителей при хиральных центрах.

Проекционные формулы Хеуорса: способ изображения циклических химических структур, отражающий конфигурацию всех заместителей; часто применяется для изображения сахаров.

Прокариоты: исторически принятый термин для обозначения всех представителей царств бактерий и архей, но, поскольку различия между бактериями (прежнее название — эубактерии) и археями достаточно велико, данный термин не имеет большого смысла. Достаточно часто прокариотами называют только бактерии, что может вызывать путаницу. Кроме того, само слово «прокариот» отчасти указывает на то, что они были предками эукариот, что некорректно.

Промежуточное соединение (интермедиат): любое химическое соединение с ограниченным временем жизни в реакционном процессе.

Промежуточные структуры Холлидея: образуются на промежуточной стадии генетической рекомбинации, когда две двунитевые молекулы ДНК удерживаются вместе благодаря взаимодействиям между отдельными нитями в каждой молекуле.

Промежуточный метаболизм: несколько ферментативных реакций, извлекающих химическую энергию из питательных веществ и использующих их для синтеза и сборки клеточных компонентов.

Промотор: последовательность ДНК, с которой может связываться РНК-полимераза, что инициирует процесс транскрипции.

Простагландины: жирорастворимые гормоноподобные регуляторные молекулы, образующиеся из арахидоновой кислоты и других полиненасыщенных жирных кислот.

Простая диффузия: перемещение молекул растворенного вещества через мембрану в область с более низкой концентрацией без помощи белкового переносчика.

Протестическая группа: ион металла или органическое соединение (но не аминокислота), ковалентно связанное с белком и необходимое для проявления его активности.

Протеасома: сложный ферментный комплекс, осуществляющий расщепление поврежденных или ненужных клеточных белков.

Протеинкиназы: ферменты, которые переносят концевую фосфорильную группу АТФ или другого нуклеозидтрифосфата на боковую цепь остатка Ser, Thr, Tyr, Asp или His в белке-мишени и тем самым регулируют активность или другие свойства этого белка.

Протеогликан: гибридная макромолекула, состоящая из гетерополисахарида и полипептида; основной компонент этой молекулы — полисахарид.

Протеом: полный набор белков, экспрессирующихся в данной клетке, или полный набор белков, который может экспрессироваться данным геномом.

Протеомика: в широком смысле — изучение белкового содержания клетки или организма.

Протомер: общий термин, описывающий любую повторяющуюся единицу одной или нескольких прочно связанных белковых субъединиц в более крупной белковой структуре. Субъединицы мультисубъединичного протомера могут быть как идентичными, так и разными.

Протондвижущая сила: электрохимический потенциал, соответствующий трансмембранному градиенту концентрации протонов; движущая сила в синтезе АТФ при окислительном фосфорилировании и фотофосфорилировании.

Протоонкоген: клеточный ген, обычно кодирующий регуляторный белок, который в результате мутации может превратиться в онкоген.

Протоплазма: общий термин, описывающий все содержимое живой клетки.

Прохиральная молекула: симметричная молекула, которая может реагировать несимметричным образом с ферментом, имеющим хиральный центр, в результате чего образуется хиральный продукт.

Процессивность: способность ферментов, катализирующих синтез биологических полимеров, присоединять к полимеру множество мономерных звеньев без диссоциации из комплекса с субстратом.

Пурин: азотсодержащее гетероциклическое основание в нуклеотидах и нуклеиновых кислотах; состоит из слитых пиримидинового и имидазольного колец.

Пуромицин: антибиотик, нарушающий синтез полипептидов; встраивается в растущую полипептидную цепь и вызывает преждевременную остановку синтеза.

Р

Равновесие: состояние системы, в котором не происходит никаких суммарных изменений; свободная энергия такой системы минимальная.

Радикал (свободный радикал): атом или группа атомов с неспаренным электроном.

Радиоактивный изотоп: изотоп элемента с нестабильным ядром, который способен испускать ионизирующую радиацию.

Радиоиммуноанализ (РИА): чувствительный количественный метод определения биологически активных веществ, основанный на конкурентном связывании со специфическими антителами.

Разобщающий агент: например, 2,4-динитрофенол, вещество, разделяющее процессы фосфорилирования ADP и переноса электронов.

Рамка считывания: непрерывная, неперекрывающаяся последовательность тринуклеотидных кодонов ДНК или РНК.

Рацемическая смесь (рацемат): эквимольная смесь D- и L-стереоизомеров оптически активного вещества.

Реактивные формы кислорода (РФК): высоко реакционноспособные продукты частичного восстановления O_2 , включая пероксид водорода (H_2O_2), супероксидный радикал ($\cdot O_2$) и гидроксильный радикал ($\cdot OH$), образующиеся в качестве побочных продуктов при окислительном фосфорилировании.

Регулон: группа координированно регулируемых генов или оперонов, иногда находящихся в удаленных друг от друга участках хромосомы или генома.

Регуляторная последовательность: последовательность ДНК, участвующая в регуляции экспрессии гена, например промотор или оператор.

Регуляторный ген: ген, продукт которого регулирует экспрессию другого гена, например ген белка-репрессора.

Регуляторный фермент: фермент, выполняющий регуляторную функцию благодаря своей способности изменять каталитическую активность в результате аллостерических взаимодействий или ковалентных модификаций.

Редактирование РНК: посттранскрипционные модификации мРНК, в результате которых изменяется смысл некоторых кодонов.

Рекомбинантная ДНК: ДНК, образующаяся путем соединения генов в новой комбинации.

Рекомбинантная репарация: рекомбинация, направленная на репарацию разрывов или перекрестных сшивок в ДНК, особенно в участках остановки репликации.

Рекомбинация: любой ферментативный процесс, в ходе которого происходит расщепление и линейная перестройка фрагментов хромосом.

Релаксированная ДНК: любая ДНК, существующая в максимально стабильной и ненапряженной форме, обычно в В-форме, почти при любых внутриклеточных условиях.

Ренатурация: свертывание развернутого (денатурированного) глобулярного белка с восстановлением его нативной структуры и функций.

Рентгеновская кристаллография: определение трехмерной структуры кристаллов методом рентгеноструктурного анализа.

Репарация: исправление ошибок, допущенных при синтезе информационных биополимеров, путем удаления неправильных звеньев уже после того, как они были включены в полимерную цепь.

Репарация ошибочного спаривания: ферментативное удаление аномально спаренных оснований в ДНК.

Репликационный комплекс: комплекс ферментов и специализированных белков, осуществляющий репликацию ДНК в клетках.

Репликативная вилка: Y-образная структура, образующаяся в участке репликации ДНК.

Репликативная форма: полноразмерная структурная форма вирусной ДНК, образующаяся на промежуточной стадии репликации некоторых вирусов.

Репликация: синтез дочерних молекул нуклеиновой кислоты, идентичных родительским молекулам.

Реплисома: полиферментный комплекс, участвующий в синтезе ДНК в репликативной вилке.

Репрессибельный фермент: бактериальный фермент, синтез которого ингибируется продуктом катализируемой им реакции.

Репрессия: снижение экспрессии гена в ответ на изменение активности регуляторного белка.

Репрессор трансляции: репрессор, который связывается с мРНК и блокирует трансляцию.

Репрессор: белок, который связывается с регуляторной последовательностью или оператором гена, тем самым блокируя транскрипцию.

Респонсивный элемент: участок ДНК несколько выше начала гена, который связывает специфический белок, влияющий на скорость транскрипции гена.

Рестрикционные эндонуклеазы (рестриктазы): сайт-специфичные эндонуклеазы, расщепляющие обе нити ДНК вблизи специфического сайта, узнаваемого ферментом; важный инструмент в генетической инженерии.

Рестрикционный фрагмент: участок ДНК, вырезаемый рестриктазой из более длинной последовательности ДНК.

Ретровирус: РНК-вирус, содержащий обратную транскриптазу.

Реутилизационный путь: синтез биомолекул, например нуклеотидов, из промежуточных продуктов расщепления этих молекул; рецикл в отличие от синтеза *de novo*.

Рецептор гормона: белок внутри клетки-мишени или на ее поверхности, который связывает специфический гормон и инициирует клеточный ответ.

Рецепторные тирозинкиназы: большое семейство белков плазматической мембраны, состоящих из лигандсвязывающего внеклеточного домена, единственной трансмембранной спирали и цитоплазматического домена с тирозинкиназной активностью, контролируемой внеклеточным лигандом.

Рецепторы, активируемые пролифераторами пероксисом (PPAR): семейство ядерных факторов транскрипции, активируемых липидными лигандами, которые изменяют экспрессию специфических генов, включая гены ферментов, участвующих в синтезе и расщеплении липидов.

Рецепторы, сопряженные с G-белком (GPCR): большое семейство рецепторных мембранных белков, состоящих из семи трансмембранных спиральных сегментов, которые образуют ассоциаты с G-белками для передачи внеклеточных сигналов с целью изменения клеточного метаболизма; другое название — серпентиновые или семиспиральные рецепторы.

Рибозимы: молекулы РНК, обладающие каталитической активностью.

Рибонуклеаза: нуклеаза, катализирующая гидролиз некоторых межнуклеотидных связей в РНК.

Рибонуклеотид: нуклеотид, содержащий в качестве пентозы D-рибозу.

Рибопереключитель: структурный элемент мРНК, который связывается со специфическим лигандом и влияет на трансляцию или процессинг мРНК.

Рибосома: надмолекулярный комплекс рРНК и белков; диаметр от 18 до 22 нм; место синтеза белка.

Рибосомная РНК (рРНК): тип молекул РНК, являющихся компонентом рибосом.

Рилизинг-гормоны (либерины): гормоны гипоталамуса, способствующие высвобождению других гормонов гипофизом.

Рилизинг-факторы (факторы терминации): белковые факторы, находящиеся в цитозоле и участвующие в высвобождении готовой полипептидной цепи из рибосомы.

РНК (рибонуклеиновая кислота): полирибонуклеотид со специфической последовательностью, звенья которого связаны 3',5'-фосфодиэфирными связями.

РНК-полимераза: фермент, катализирующий образование РНК из рибонуклеозид-5'-трифосфатов на основании матрицы ДНК или РНК.

С

Сайт-направленный мутагенез: генно-инженерный метод, позволяющий специфическим образом изменять последовательность гена.

Сайт-специфическая рекомбинация: тип генетической рекомбинации, затрагивающей только специфические последовательности.

Саркомер: функциональная структурная единица сократительного аппарата мышц.

Сателлитная ДНК: нетранслируемый участок эукариотической хромосомы, содержащий большое количество повторов; чаще всего встречается в центромере; функция неизвестна.

Саузерн-блот: процедура, позволяющая выявить один или несколько специфических фрагментов ДНК путем гибридизации с комплементарным меченым зондом.

Сахарный диабет: группа метаболических заболеваний, связанных с недостаточным синтезом инсулина или нарушением его активности; проявляется в нарушении транспорта глюкозы из крови в клетки.

Сведберг (S): единица измерения скорости осаждения частицы при центрифугировании.

Суперспираль: спиральная молекула, закрученная вокруг самой себя.

Суперспиральная ДНК: ДНК, обернутая вокруг самой себя из-за напряжения, вызванного недостаточным или избыточным закручиванием двойной спирали (по сравнению с В-формой).

Световые реакции: реакции фотосинтеза, которые не могут протекать в темноте.

Свободная энергия (G): часть общей энергии системы, способная превращаться в работу при постоянных температуре и давлении.

Сдвиг рамки считывания: мутация (инсерция или делеция) нескольких нуклеотидов, изменяющая считывание кодонов в процессе синтеза белка; начиная с мутированного кодона, считывается искаженная аминокислотная последовательность.

Селектины: большое семейство мембранных белков, прочно и специфично связывающих олигосахариды на поверхности других клеток, что позволяет передавать сигналы через плазматическую мембрану.

Серповидно-клеточная анемия: заболевание человека, характеризующееся наличием дефектного гемоглобина у гомозиготных индивидов с мутантной аллелью, кодирующей β -цепь гемоглобина.

Серповидно-клеточный признак: образование эритроцитов серповидной формы у гетерозиготных индивидов с одной мутантной аллелью, ответственной за серповидно-клеточную анемию; проявляется при понижении содержания кислорода в воздухе.

Сиалоадгезин: лектин на внешней поверхности клетки, который связывается с углеводными лигандами, имеющими на конце остаток сиаловой кислоты; представитель лектинов семейства siglec.

Сигнальная последовательность: аминокислотная последовательность, расположенная чаще всего на N-конце, которая указывает назначение или локализацию вновь синтезированного клеточного белка.

Силы Лондона: слабые (недолговечные) силы притяжения между молекулами, индуцирующими образование молекулярных диполей.

Симбионты: два или несколько взаимозависимых организмов, обычно живущих в непосредственном контакте.

Симпорт: одновременный перенос растворенных веществ через мембрану в одном и том же направлении.

Синтазы: ферменты, катализирующие реакции конденсации, протекающие без использования нуклеозидтрифосфатов в качестве источников энергии.

Синтения: сохранение порядка расположения генов в хромосомах различных видов организмов.

Синтетазы: ферменты, катализирующие реакции конденсации, протекающие за счет энергии расщепления АТФ или других нуклеозидтрифосфатов.

Системная биология: изучение сложных биохимических систем, включая все или некоторые функции клеточных макромолекул (РНК, ДНК, белков).

Складчатый лист: упаковка полипептидных цепей с β -конформацией в виде растянутой гармошки, удерживаемая водородными связями.

Скрамблазы: мембранные белки, катализирующие перемещение фосфолипидов в двуслойной мембране, приводящее к равномерному распределению липидов между внешним и внутренним слоем.

Следовый элемент (микроэлемент): химический элемент, необходимый организму лишь в следовых количествах.

Слитый белок (белок слияния): (1) представитель семейства белков, облегчающих слияние мембран; (2) белковый продукт гена, полученного путем соединения двух разных генов или частей генов.

Соматическая клетка: любая клетка тела, кроме половой клетки.

Сопряженные реакции: две химические реакции, имеющие общее промежуточное соединение и способные обмениваться энергией.

Спаривание оснований: образование водородных связей между нуклеотидами в цепях нуклеиновых кислот; например, А образует пару с Т или U, G — пару с C.

Спектроскопия ядерного магнитного резонанса (ЯМР-спектроскопия): физико-химический метод анализа, использующий квантово-механические

свойства атомных ядер для изучения структуры и динамики молекул.

Специфический кислотно-основной катализ: кислотный или основной катализ с участием компонентов молекулы воды (гидроксид-иона или иона гидроксония).

Специфичность: способность фермента (рецептора) различать конкурирующие субстраты (лиганды).

α -Спираль: спиральная конформация полипептидной цепи (обычно закрученная вправо), отличающаяся максимальным числом водородных связей; одна из самых распространенных вторичных структур в белках.

Спиртовое брожение: анаэробное превращение глюкозы в этиловый спирт в процессе гликолиза.

Сплайсинг: удаление интронов и сшивание экзонов первичного РНК-транскрипта.

Сплайсосома: комплекс РНК и белков, осуществляющий сплайсинг мРНК в эукариотических клетках.

Стандартное изменение свободной энергии (ΔG°): изменение свободной энергии в реакции, происходящей при стандартных условиях: температура 298 К, давление 1 атм (101,3 кПа), концентрация всех растворенных веществ 1 моль/л; ΔG° соответствует изменению свободной энергии при pH 7,0 в 55,5 М воде.

Стандартный восстановительный потенциал (E°): электродвижущая сила, создаваемая на электроде в 1 М раствора восстанавливающего агента и его окисленной формы при 25 °С и pH 7,0; мера способности восстановителя отдавать электроны.

Стартовый кодон: AUG (иногда GUG или еще реже UUG в бактериях и археях); кодирует первую аминокислоту полипептидной последовательности — N-формилметионин в бактериях, метионин в археях и эукариотах.

Стационарное состояние: состояние системы, при котором концентрации всех компонентов постоянны.

Стволовые клетки: самообновляющиеся клетки костного мозга, из которых в результате дифференцировки образуются такие клетки крови, как эритроциты и лимфоциты.

Стереои́зомеры: соединения одного и того же состава и с одинаковым порядком межатомных связей, но с разным пространственным расположением атомов.

Стерины (стеролы): липиды, содержащие стероидную структуру.

Стимулирующий G-белок (G_s): тримерный регуляторный GTP-связывающий белок, который активируется в результате связывания с рецептором на плазматической мембране и стимулирует находящиеся поблизости мембранные ферменты, такие как аденилатциклаза; его действие противоположно действию G_i .

Стоп-кодон (терминирующий кодон): UAA, UAG и UGA. При синтезе белка служит сигналом для окончания синтеза полипептидной цепи.

Строма: область внутри хлоропласта, окружающая тилакоиды.

Структурный ген: ген, кодирующий белок или РНК (в отличие от регуляторного гена).

Субстрат: специфическое соединение, превращение которого катализирует фермент.

Субстратное туннелирование: перемещение промежуточных соединений ферментативного процесса внутри белкового комплекса напрямую от активного центра одного фермента в активный центр другого фермента, катализирующего следующую стадию процесса.

Субстратное фосфорилирование: фосфорилирование ADP или другого нуклеозид-5'-дифосфата, сопряженное с дегидрированием органического субстрата, независимо от электрон-транспортной цепи.

Суицидный ингибитор: сравнительно малоактивная молекула, которая связывается с активным центром фермента, переходит в активную форму и необратимо инактивирует фермент.

Супрессорная мутация: мутация, которая частично или полностью восстанавливает функцию, потерянную в результате предыдущей мутации, но происходит в ином участке, нежели исходная мутация (т. е. в отличие от обратной мутации, восстанавливает не генотип, а фенотип).

Сфинголипид: амфифильный липид — сфингозин с присоединенными к нему остатками жирных кислот и полярного спирта.

Т

Теломера: специализированная структура на концах линейных эукариотических хромосом.

Терминальная трансфераза: фермент, катализирующий присоединение нуклеотидных звеньев определенного типа к 3'-концу цепи ДНК.

Терминационная последовательность: последовательность ДНК на конце транскрипционной единицы, обозначающая окончание транскрипции.

Термогенез: выделение тепла при мышечной активности, в несопряженном окислительном фосфорилировании или в холостом метаболическом цикле.

Термогенин (разобщающий белок-1): белок внутренней мембраны митохондрий в бурой жировой ткани, который позволяет протонам проходить через мембрану, предотвращает использование протонов для синтеза АТФ и рассеивает энергию от окисления субстратов в виде тепла.

Терпены: органические углеводороды или их производные, состоящие из повторяющихся изопреновых звеньев; придают вкус и запах растительным продуктам.

Тетрагидрибиоптерин: кофермент; восстановленная форма биоптерина.

Тетрагидрофолат: кофермент; восстановленная, активная форма фолата.

Тиаминпирофосфат: кофермент, активная форма витамина B₁; участвует в реакциях переноса альдегидных групп.

Тилакоиды: замкнутые цистерны или диски, образованные содержащей пигмент внутренней мембраной хлоропластов.

Тиоэфир: сложный эфир карбоновой кислоты с тиолом или меркаптаном.

Токоферол: форма витамина E.

Токсины: белки, синтезируемые некоторыми организмами, и токсичные для других организмов.

Топоизомеразы: ферменты, вводящие положительные или отрицательные витки в замкнутый кольцевой ДНК-дууплекс.

Топоизомеры: формы кольцевой молекулы ДНК, различающиеся только порядком зацепления.

Точка начала репликации (ori): участок последовательности ДНК, в котором начинается репликация.

Трансаминирование: ферментативный перенос аминогруппы от α -аминокислоты на α -кетокислоту.

Трансгенный организм: организм, в геноме которого с помощью методов рекомбинации включены гены другого организма.

Трансдукция: (1) превращение одной формы энергии или информации в другую форму; (2) перенос генетической информации из одной клетки в другую с помощью вирусного вектора.

Транскриптом: полный набор РНК-транскриптов, присутствующих в данной клетке или ткани в определенных условиях.

Транскрипционный фактор: эукариотический белок, влияющий на регуляцию и инициацию транскрипции гена путем связывания с регуляторной последовательностью гена и взаимодействия с РНК-полимеразой или другими транскрипционными факторами.

Транскрипция: ферментативный процесс, в результате которого генетическая информация, заключенная в однонитевой ДНК, используется для синтеза комплементарной последовательности мРНК.

Транслоказа: (1) фермент, катализирующий транспорт веществ через мембрану; (2) фермент, участвующий в перемещении макромолекул, например в перемещении рибосом вдоль мРНК.

Транспирация: испарение воды, прошедшей от корней растений через сосудистую систему в листья.

Транспозиция: перемещение гена или группы генов из одного участка генома в другой.

Транспозон: участок ДНК, который может перемещаться из одной позиции в геноме в другую.

Транспортная РНК (тРНК): молекулы РНК с массой от 25 000 до 35 000, каждая из которых связывает одну специфическую аминокислоту на первом этапе биосинтеза белка.

Трансформация: введение в клетку чужеродной ДНК, в результате чего клетка приобретает новый фенотип.

Триацилглицерины (нейтральные жиры): сложные эфиры глицерина и трех молекул жирных кислот.

Триоза: простой сахар, остов которого состоит из трех атомов углерода.

Тромбоксаны: производные арахидоновой кислоты, участвующие в агрегации тромбоцитов при свертывании крови.

Тромбоциты: небольшие безъядерные клетки крови, инициирующие процесс свертывания; образуются из клеток костного мозга, называемых мегакариоцитами.

Тропный гормон (тропин): пептидный гормон, заставляющий специфическую железу секретировать ее гормон; например, тиреотропин, синтезируемый гипофизом, стимулирует секрецию тироксина щитовидной железой.

Тунелирование: прямой перенос продукта реакции из активного центра одного фермента в активный центр другого фермента, катализирующего следующую стадию метаболического пути.

У

Убиквитин: небольшой консервативный белок, связывающийся с внутриклеточными белками, которые должны быть направлены на уничтожение в протеасомы. Несколько молекул убиквитина присоединяются к остаткам лизина в белке-мишени ковалентной связью с помощью специфического фермента.

Удельная активность фермента: количество субстрата в микромолях, превращенного ферментом в минуту в расчете на миллиграмм белка при 25 °С; мера чистоты ферментного препарата.

Удельная теплоемкость: количество энергии (в джоулях или калориях), которое нужно затратить, чтобы повысить температуру 1 г чистого вещества на 1 °С.

Удельное вращение: поворот (в градусах) плоскости плоскополяризованного света при пропускании через раствор оптически активного вещества при заданной

длине светового пути при 25 °С; обычно свет с длиной волны D-линии натрия.

Ультрафиолетовое (УФ) излучение: электромагнитное излучение с длиной волны в диапазоне от 200 до 400 нм.

Унипорт: транспортная система, переносящая лишь один тип растворенных веществ (в отличие от симпорта).

Уреотелический организм: организм, выводящий избыток азота в форме мочевины.

Урикетелический организм: организм, выводящий избыток азота в форме мочевой кислоты (уратов).

Уходящая группа: удаляемая или вытесняемая часть молекулы в реакции элиминирования или замещения.

Ф

Факторы роста: белки или другие молекулы, действующие на клетку извне и стимулирующие ее рост и деление.

Факторы элонгации: (1) белки, участвующие в транскрипции эукариотической ДНК на стадии элонгации; (2) белки, необходимые для удлинения полипептидной цепи на рибосомах.

Факультативные аэробы/анаэробы: клетки, способные жить в присутствии/отсутствии кислорода.

Фенотип: видимые признаки организма.

Фермент: белок или РНК, катализирующий специфическую химическую реакцию; фермент не смещает равновесие реакции, но увеличивает ее скорость, предлагая новый реакционный путь с более низкой энергией активации.

Ферментативный каскад: серия реакций, вовлеченных в процесс регуляции, в которых один фермент активирует другой (часто путем фосфорилирования), второй активирует третий и т. д. В результате каскада реакций происходит значительное усиление исходного сигнала.

Ферменты со скрытой функцией: ферменты, выполняющие две различные функции, из которых хотя бы одна каталитическая; другая функция может быть регуляторной, каталитической или структурной.

Ферредоксин: железосерный белок (2Fe-2S) хлоропластов, переносящий электроны от железосерных центров, ассоциированных с фотосистемой I, на NADP⁺ в процессе фотофосфорилирования.

Фибриллярные белки: нерастворимые белки, выполняющие защитную или структурную функцию; состоят из полипептидных цепей, имеющих характерную вторичную структуру.

Фибробласт: клетка соединительной ткани, секретирующая такие белки, как коллаген.

Фиксация азота: превращение атмосферного азота в восстановленную, биологически доступную форму под действием азотфиксирующих организмов.

Фиксация углерода: первая реакция при фотосинтезе, катализируемая рубиско или другими карбоксилазами, в результате которой атмосферный CO_2 включается в состав органического соединения.

Флавинаденидинуклеотид (ФАД; FAD): кофермент некоторых окислительно-восстановительных ферментов; содержит рибофлавин.

Флавинозависимые дегидрогеназы: дегидрогеназы, использующие в качестве кофакторов FMN или FAD.

Флавиномононуклеотид (ФМН, FMN): рибофлавинофосфат, кофермент некоторых окислительно-восстановительных ферментов.

Флавиновые нуклеотиды: нуклеотидные коферменты (FMN и FAD), содержащие рибофлавин.

Флавопротеин: фермент, содержащий в качестве протетической группы флавиновый нуклеотид.

Флиппазы: мембранные белки из семейства ABC-переносчиков, катализирующие перемещение фосфолипидов из наружного слоя двойной мембраны в цитозольный слой.

Флоппазы: мембранные белки из семейства ABC-переносчиков, катализирующие перенос фосфолипидов из цитозольного слоя двойной мембраны во внешний слой.

Флуоресценция: испускание света молекулами при их возвращении из возбужденного в основное состояние.

Фосфатазы: ферменты, расщепляющие фосфоэфирную или фосфоангидридную связь с высвобождением неорганического фосфата.

Фосфодизфирная связь: химическая группа, состоящая из двух спиртов, образующих эфиры с одной молекулой фосфорной кислоты, которая служит мостиком между ними.

Фосфолипид: липид, содержащий одну или несколько фосфатных групп.

Фосфорилазы: ферменты, катализирующие фосфолиз.

Фосфорилирование: образование фосфатного производного биомолекулы, обычно путем ферментативного переноса фосфорильной группы от АТФ.

Фосфоролиз: расщепление связей под действием фосфатной группы; процесс, аналогичный гидролизу.

Фотовосстановление: индуцированное светом восстановление акцептора электронов в фотосинтезирующих клетках.

Фотодыхание: потребление кислорода, происходящее на свету в клетках растений, главным образом, как результат окисления фосfogликолата.

Фотон (квант): мельчайшая единица световой энергии.

Фотосинтез: использование энергии света для синтеза углеводов из углекислого газа (диоксида углерода) и воды (вода — восстановитель).

Фотосистема: специфические функциональные группы светопоглощающих пигментов и реакционный центр в фотосинтезирующих клетках.

Фототроф: организм, способный использовать энергию света для синтеза топливных молекул из таких простых соединений, как вода, углекислый газ и кислород (в отличие от хемотрофа).

Фотофосфорилирование: ферментативное образование АТФ из АДФ, сопряженное со светозависимым переносом электронов в фотосинтезирующих клетках.

Фотохимический реакционный центр: часть фотосинтетического комплекса, в котором энергия поглощенного фотона вызывает разделение зарядов, инициирующее перенос электронов.

Фракционирование: процесс разделения белков или других сложных смесей на фракции на основании таких свойств, как растворимость, заряд, молекулярная масса или функция.

Фракция: часть биологического образца после определенной процедуры, предназначенной для разделения макромолекул на основании их растворимости, заряда, молекулярной массы или функций.

Функциональная группа: специфический атом или группа атомов, придающая биомолекуле специфические химические свойства.

Фураноза: простой сахар, содержащий пятичленное фурановое кольцо.

Футпринтинг: метод идентификации последовательностей нуклеиновых кислот, связанных с ДНК- или РНК-связывающими белками.

Х

Хемиосмотическая теория: теория о запасании энергии в электрон-транспортных реакциях в виде трансмембранного потенциала и рН с ее последующим использованием для образования АТФ в реакциях окислительного фосфорилирования и фотофосфорилирования.

Хемиосмотическое сопряжение: сопряжение синтеза АТФ с переносом протонов по трансмембранному потенциалу и по градиенту рН.

Хемотаксис: восприятие клетками специфического химического сигнала и их движение к источнику этого сигнала или от него.

Хемотроф: организм, получающий энергию за счет метаболизма органических веществ, синтезированных другими организмами.

Хендерсона–Хассельбаха уравнение: уравнение, связывающее pH , pK_a и отношение концентраций акцептора (A^-) и донора протонов (HA) в растворе: $pH = pK_a + \log[A^-]/[HA]$.

Хилла коэффициент: характеризует кооперативность взаимодействия между субъединицами белка.

Хилла реакция: выделение кислорода и восстановление искусственно введенного акцептора электронов в образце хлоропластов.

Хиломикрон: липопротеин плазмы крови, состоящий из триацилглицеринового ядра, покрытого пленкой белка и фосфолипидов; переносит липиды из кишечника к тканям.

Химерная ДНК: ДНК, содержащая генетическую информацию разных видов организмов.

Химотрипсин: хорошо изученная протеаза, расщепляющая полипептидную цепь у ароматических аминокислотных остатков со стороны С-конца.

Химотрипсиноген: неактивный предшественник (зимоген) химотрипсина.

Хиральное соединение: соединение, содержащее асимметрический центр (хиральный атом или хиральный центр) и существующее в виде двух несовместимых зеркальных форм (энантиомеров).

Хиральный центр: атом, заместители при котором расположены таким образом, что молекула в целом может быть совмещена с ее зеркальным отображением.

Хлоропласт: содержащая хлорофилл фотосинтетическая органелла в некоторых эукариотических клетках.

Холостой цикл: цикл ферментативных реакций, в котором гидролиз АТФ приводит только к выделению тепловой энергии.

Холофермент: каталитически активный фермент, содержащий все необходимые для катализа субъединицы, простетические группы и кофакторы.

Хондроитинсульфат: представитель семейства сульфатированных гликозаминогликанов, важный компонент внеклеточного матрикса.

Хроматин: нитчатый комплекс, образованный ДНК, гистонами и другими белками, составляющий хромосому эукариот.

Хроматография: метод разделения сложных смесей веществ на основании их различного распределения между подвижной и неподвижной фазой.

Хромосома: единая крупная молекула ДНК со связанными с ней белками, содержащая в себе множество генов; форма хранения и передачи генетической информации.

Ц

Цвиттер-ион: биполярный ион с пространственным разделением положительного и отрицательного зарядов.

Центр связывания: щель или карман в молекуле белка, в котором связывается молекула лиганда.

Центромера: специализированная область хромосомы, где при митозе и мейозе прикрепляется веретено деления.

Цереброзид: сфинголипид, в головке которого в качестве группы находится один остаток сахара.

Цикл Кальвина: циклический путь метаболизма в растениях, в результате которого происходит фиксация диоксида углерода и образование триозофосфатов.

Цикл лимонной кислоты (цикл Кребса или цикл трикарбоновых кислот): циклический метаболический путь окисления ацетильных групп до диоксида углерода; первая стадия цикла — образование цитрата (соль лимонной кислоты).

Цикл мочевины: циклический метаболический путь в печени позвоночных, в результате которого из аминокислот и диоксида углерода образуется мочевина.

Циклин: представитель семейства белков, регулирующих клеточный цикл путем активации циклин-зависимых протеинкиназ.

Циклический АМР (сАМР): вторичный мессенджер; его образование аденилатциклазой стимулируют некоторые гормоны и другие сигналы.

Циклический поток электронов: индуцированный светом поток электронов в хлоропластах, начинающийся и заканчивающийся в фотосистеме I.

Циклическое фотофосфорилирование: синтез АТФ, направляемый циклическим потоком электронов через фотосистему I.

Цинковые пальцы: специфический белковый мотив, участвующий в связывании некоторых белков с ДНК; в состав входит атом цинка, соединенный координационными связями с четырьмя остатками лизина или двумя остатками лизина и двумя остатками гистидина.

Цистрон: участок ДНК или РНК, соответствующий одному гену.

Цитозоль: водная фаза цитоплазмы, лишенная органелл, с растворенными в ней веществами.

Цитокин: представитель семейства небольших секреторируемых белков (интерлейкины или интерфероны), активирующих дифференцировку или деление клетки-мишени путем взаимодействия с рецепторами на ее плазматической мембране.

Цитокинез: окончательное разделение дочерних клеток после митоза.

Цитоплазма: внутриклеточное содержимое между ядром и плазматической мембраной; содержит различные органеллы, включая митохондрии.

Цитоскелет: нитчатая сеть, обеспечивающая структурную организацию цитоплазмы; содержит актиновые филаменты, микротрубочки и промежуточные филаменты.

Цитохром Р-450: семейство гем-содержащих ферментов с характерной полосой поглощения при 450 нм, участвующих в биологических реакциях гидроксирования.

Цитохромы: гемовые белки, выполняющие функцию переносчиков электронов в процессах дыхания, фотосинтеза и других окислительно-восстановительных реакциях.

Ч

Четвертичная структура: трехмерная структура субъединичного белка, описывающая, в частности, взаимное расположение его субъединиц.

Число Авогадро (N): число молекул в 1 моль любого вещества ($N = 6,02 \cdot 10^{23}$ молекул).

Число оборотов: число молекул субстрата, превращенных молекулой фермента в продукт за единицу времени, в условиях максимальной активности фермента и при насыщающей концентрации субстрата.

Ш

Шайна–Дальгарно последовательность: участок мРНК, необходимый для связывания с бактериальной рибосомой.

Шаттл-вектор: векторная ДНК, способная реплицироваться в нескольких видах хозяйских клеток.

Шпилька: вторичная структура однонитевой РНК или ДНК; закрытый с одной стороны антипараллельный дуплекс, образующийся путем спаривания палиндромных повторов.

Э

Эймса тест: способ оценки канцерогенной (мутагенной) активности химических веществ по отношению к бактериальным клеткам.

Экзергоническая реакция: химическая реакция, протекающая с выделением энергии ($\Delta G < 0$).

Экзон: участок эукариотического гена, кодирующий часть конечного продукта гена; участок РНК, сохраняющийся в зрелой РНК, который транслируется в белок или входит в структуру РНК.

Эксонуклеаза: фермент, отщепляющий концевые нуклеотиды в последовательности нуклеиновой кислоты.

Экзотермическая реакция: химическая реакция, протекающая с выделением тепла ($\Delta H < 0$).

Экзоцитоз: слияние внутриклеточных везикул с плазматической мембраной, в результате которого содержимое везикул выводится во внеклеточное пространство.

Эксклюзионная хроматография (гель-фильтрация): метод разделения молекул по размерам с помощью пористых полимеров, удерживающих растворенные вещества только определенного размера.

Экспрессия гена: образование продукта гена — транскрипция и (в случае гена белка) трансляция; свидетельством экспрессии гена является наличие его активного продукта.

Электропорация: введение в клетку макромолекул при временном повышении проницаемости клеточной мембраны под действием высокого электрического напряжения.

Электрофил: электродефицитная группа с выраженной тенденцией принимать электроны от богатой электронами группы (нуклеофила).

Электрофорез: перемещение ионов в электрическом поле; часто применяется для разделения смесей ионов, белков или нуклеиновых кислот.

Электрохимический градиент: связан с градиентом концентрации и электрическим зарядом иона с двух сторон от мембраны; движущая сила окислительного фосфорилирования и фотофосфорилирования.

Электрохимический потенциал: энергия, необходимая для поддержания разделения зарядов и концентрации иона на разных сторонах мембраны.

Элементы гормонального ответа (HRE): короткие последовательности ДНК (от 12 до 20 п. н.), которые связывают рецепторы стероидных, ретиноидных и тиреоидных гормонов и витамина D, изменяя экспрессию соответствующих генов. Для каждого гормона существует своя консенсусная последовательность.

Элюат: жидкая фаза на выходе с хроматографической колонки.

Энантиомеры: стереоизомеры, различающиеся как объект и его зеркальное отображение.

Эндергоническая реакция: химическая реакция, сопровождающаяся расходом энергии ($\Delta G > 0$).

Эндокринная железа: группа специализированных клеток, синтезирующих и секретирующих в кровь гормоны, которые регулируют активность других клеток.

Эндонуклеаза: фермент, расщепляющий внутренние фосфодиэфирные связи в молекулах нуклеиновых кислот.

Эндоплазматический ретикулум: протяженная система двуслойных мембран в цитоплазме эукариотической клетки; часть эндоплазматического ретикулума, покрытую рибосомами, называют шероховатым эндоплазматическим ретикулумом.

Эндотермическая реакция: химическая реакция, протекающая с поглощением тепла ($\Delta H > 0$).

Эндоцитоз: захват клеткой внеклеточных веществ путем заключения их в везикулы (эндосомы), образующиеся при инвагинации плазматической мембраны.

Энергетический заряд: соотношение макроэнергетических фосфатных групп в системе ATP/ADP/AMP.

Энергетическое сопряжение: передача энергии между двумя процессами.

Энергия активации (ΔG^+): количество энергии (в джоулях), необходимое для перевода 1 моль молекул реагирующего вещества из основного состояния в переходное состояние.

Энергия связи: энергия, необходимая для разрыва химической связи.

Энергия связывания: энергия нековалентного взаимодействия между ферментом и субстратом или рецептором и лигандом.

Энтальпия (H): теплосодержание системы.

Энтропия (S): степень упорядоченности системы.

Энхансер: последовательность ДНК, усиливающая экспрессию определенного гена; может находиться на расстоянии нескольких сотен и даже тысяч пар оснований от этого гена.

Эпигенетика: приобретение живым организмом некоторого признака не через изменение нуклеотидной последовательности родительских хромосом, а,

например, в результате ковалентной модификации гистонов.

Эпимераза: фермент, катализирующий обратимые взаимопревращения двух эпимеров.

Эпимеры: два стереоизомера, различающиеся конфигурацией у одного из асимметрических центров в молекуле с двумя или большим числом асимметрических центров.

Эпителиальные клетки: любые покровные клетки организма или органа.

Эпитоп (антигенная детерминанта): участок на поверхности макромолекулы (антигена), с которым связывается конкретное антитело.

Эпитопная метка: белковая последовательность или домен, связывающийся с хорошо охарактеризованным антителом.

Эритроциты: красные кровяные клетки, содержащие большое количество гемоглобина и специализирующаяся на переносе кислорода.

Эукариоты: одноклеточные или многоклеточные организмы, клетки которых имеют заключенное в мембрану ядро, несколько хромосом и внутренние органеллы.

Эухроматин: слабо окрашиваемый участок интерфазной хромосомы — в отличие от конденсированного и более сильно окрашиваемого гетерохроматина; часто соответствует участку хромосомы с активной экспрессией генов.

Я

Ядро: содержащая хромосомы и ограниченная мембраной органелла эукариотической клетки.

Ядрышко: сильно окрашиваемая структура внутри ядра эукариотической клетки; участвует в синтезе рРНК и в образовании рибосом.

Модели молекул

МОЛЕКУЛЯРНАЯ ГРАФИКА. Если не указано иного, молекулярная графика сделана Jean-Yves Sgro, Ph.D., или H. Adam Steinberg из Университета Висконсин-Мэдисон, биохимический факультет.

АТОМНЫЕ КООРДИНАТЫ. Если не указано иного, атомные координаты взяты из Protein Data Bank на сайте Research Collaboratory for Structural Bioinformatics, www.rcsb.org/pdb/. См. Berman, H. M., Westbrook, J., Feng, Z., Gilliland, G., Bhat, T. N., Weissig, H., Shindyalov, I. N., & Bourne, P. E. (2000) The Protein Data Bank. *Nucleic Acids Res.* 28, 235–242; Bernstein, F. C., Koetzle, T. F., Williams, G. J. B., Meyer, E. F., Jr., Brice, M. D., Rodgers, J. R., Kennard, O., Shimanouchi, T., & Tasumi, M. (1977) Protein Data Bank: a computer-based archival file for macromolecular structures. *J. Mol. Biol.* 112, 535; и Abola, E. E., Bernstein, F. C., Bryant, S. H., Koetzle, T. F., & Weng, J. (1987) Protein Data Bank. *B Crystallographic Databases – Information Content, Software Systems, Scientific Applications* (Allen, F. H., Bergerhoff, G., & Sievers, R., eds), Data Commission of the International Union of Crystallography, Bonn, p. 107.

Некоторые структуры созданы с использованием Sybyl 6.2, Tripos Inc., www.tripos.com или PyMOL, pymol.sourceforge.net.

Том 1

ГЛАВА 1. С. 15. François Jacob (1970) *The Logic of Life: A History of Heredity*, Pantheon Books, Inc., New York, 1973; оригинальная публикация (1970): *La logique du vivant: une histoire de l'hérédité*, Editions Gallimard, Paris; **рис. 1-1, а.** Ron Boardman/Frank Lane Agency/Corbis; **рис. 1-1, б.** W. Perry Conway/Corbis; **рис. 1-1, в.** Karen Tweedy-Holmes/Corbis; **рис. 1-2.** The Bridgeman Art Library; **рис. 1-4.** По Woese, C. R. (1987) Bacterial evolution. *Microbiol. Rev.* 51, 221, Fig. 4; **рис. 1-6 (слева вверху)** T. J. Beveridge/Biological Photo Service; **(справа вверху, слева внизу)** Biological Photo Service; **(справа внизу)** Norma J. Lange/Biological Photo Service; **рис. 1-8.** По Alberts, B., Bray, D., Lewis, J., Raff, M., Roberts, K., & Watson, J. D. (1989) *Molecular Biology of the Cell*, 2nd edn, Garland Publishing, Inc., New York, pp. 165–166; с изм.; **рис. 1-9, а.** С любезного разрешения Invitrogen; **рис. 1-9, б.** Dr. Alexey Khodjakov, Wadsworth Center, New York State Department of Health; **рис. 1-11.** По Becker, W. M. & Deamer, D. W. (1991) *The World of the Cell*, 2nd edn, Fig. 2-15, Benjamin/Cummings Publishing Company, Menlo Park, CA; с изм.; **рис. 1-16.** Acetyl-CoA из PDB ID 1DM3, Modis, Y. & Wierenga, R. K. (2000) Crystallographic analysis of the reaction pathway of *Zoogloea ramigera* biosynthetic thiolase. *J. Mol. Biol.* 297, 1171; **рис. 1-20.** По Carroll, F. (1998) *Perspectives on Structure and Mechanism in Organic Chemistry*, Brooks/Cole Publishing Co., Pacific Grove, CA, p. 63; с изм.; **доп. 1-2** (Пастер). The Granger Collection;

рис. 1-22. PDB ID 1AKX, Brodsky, A. S. & Williamson, J. R. (1997) Solution structure of the HIV-2 Tar-argininamide complex. *J. Mol. Biol.* 267, 624; с. 44 (Гиббс) Historical Pictures Service/Stock Montage; **рис. 1-29, а.** Erich Lessing/Art Resource, New York; **рис. 1-29, б.** Dr. Gopal Murti-CNRI/Phototake New York; с. 54. Theodosius Dobzhansky (1973) Nothing in biology makes sense except in the light of evolution. *The American Biology Teacher* (March) 35, 125–129.

ГЛАВА 2. С. 73. Linus Pauling (1939) *The Nature of the Chemical Bond and the Structure of Molecules and Crystals: An Introduction to Modern Structural Chemistry*, Cornell University Press, Ithaca, NY; **рис. 2-9.** PDB ID 1A3N, Tame, J. & Vallone, B. (1998) Deoxy human hemoglobin (оригинальный источник недоступен); **рис. 2-10.** По Nicolls, P. (2000) Introduction: the biology of the water molecule. *Cell. Mol. Life Sci.* 57, 987, Fig. 6a (перерисовано по данным из PDB и файлам kinemage, опубликованным в статье Martinez, S.E., Huang, D., Ponomarev, M., Cramer, W. A., & Smith, J. L. (1996) The heme redox center of chloroplast cytochrome *f* is linked to a buried five-water chain. *Protein Sci.* 5, 1081) с изм.; **доп. 2-1.** J. B. S. Haldane (1928) *Possible Worlds*, Harper and Brothers, New York and London, pp. 113–126; с. 105. Jon Bertsch/Visuals Unlimited.

ГЛАВА 3. С. 113. J. J. Berzelius (1838) Letter to G. J. Mulder. In H. B. Vickery (1950) The origin of the word protein. *Yale Journal of Biology and Medicine* 22, 387–393; **рис. 3-1, а.** Runk/Schoenburger/Grant Heilman Photography; **рис. 3-1, б.** Bill Longcore/Photo Researchers; **рис. 3-1, в.** Animals Animals; с. 115 (Дейххофф). С любезного разрешения Ruth E. Dayhoff; **рис. 3-18, б.** Julia Cox, University of Wisconsin–Madison, Department of Biochemistry; **рис. 3-21, б.** Patrick H. O'Farrell, University of California Medical Center, San Francisco, Department of Biochemistry and Biophysics; **рис. 3-23.** PDB ID 1HGA, Liddington, R., Derewenda, Z., Dodson, E., Hubbard, R., & Dodson, G. (1992) High resolution crystal structures and comparisons of T-state deoxyhaemoglobin and two liganded T-state haemoglobins: T(α -oxy) haemoglobin and T(met)haemoglobin. *J. Mol. Biol.* 228, 551; с. 143 (Сенгер). UPI/Corbis-Bettmann; **доп. 3-2, рис. 1, 2.** По Mann, M. & Wilm, M. (1995) Electrospray mass spectrometry for protein characterization. *Trends Biochem. Sci.* 20, 219; p. 101 (Merrifield) Corbis/Bettmann; с изм.; **доп. 3-3, рис. 1.** Информация о последовательности для *a* – из документа ID PDOC00017, для *b* – из документа ID PDOC00018, www.expasy.org/prosite, Hulo, N., Bairoch, A., Bulliard, V., Cerutti, L., De Castro, E., Langendijk-Genevaux, P. S., Pagni, M., & Sigrist, C. J. A. (2006) The PROSITE database. *Nucleic Acids Res.* 34, D227; WebLogo из http://weblogo.berkeley.edu, Crooks, G. E., Hon, G., Chandonia, J. M., & Brenner, S. E. (2004) WebLogo: a sequence logo generator, *Genome Res.* 14, 1188; **рис. 3-30, 3-31, 3-32.** По Gupta, R. S. (1998) Protein phylogenies and signature

sequences: a reappraisal of evolutionary relationships among archaeobacteria, eubacteria, and eukaryotes. *Microbiol. Mol. Biol. Rev.* 62, 1435, Figs 2, 7, 11, соответственно; с изм.; **рис. 3-33.** По Delsuc, F., Brinkmann, H., & Philippe, H. (2005) Phylogenomics and the reconstruction of the tree of life. *Nat. Rev. Genet.* 6, 366; с. 167, задача 21. См. источник для доп. 3-3, рис. 1., документ ID PDOC00270.

ГЛАВА 4. С. 171. J. C. Kendrew et al. (1958) A three-dimensional model of the myoglobin molecule obtained by x-ray analysis. *Nature* 181, 662–666; **рис. 4-1.** PDB ID 6GCH, Brady, K., Wei, A., Ringe, D., & Abeles, R. H. (1990) Structure of chymotrypsin-trifluoromethyl ketone inhibitor complexes: comparison of slowly and rapidly equilibrating inhibitors. *Biochemistry* 29, 7600; координаты для глицина – из Sybyl; **с. 174.** (Полинг) Corbis/Bettmann; (Кори). AP/Wide World Photos; **рис. 4-3.** По Creighton, T. E. (1984) *Proteins*, p. 166. © 1984 by W. H. Freeman and Company. Перепечатано с разрешения; **рис. 4-4, б, в.** PDB ID 4TNC, Satyshur, K. A., Rao, S. T., Pyzalska, D., Drendel, W., Greaser, M., & Sundaralingam, M. (1988) Refined structure of chicken skeletal muscle troponin C in the two-calcium state at 2-angstroms resolution. *J. Biol. Chem.* 263, 1628; **рис. 4-8, а.** См. источник для рис. 4-3; **рис. 4-8, б.** С любезного разрешения Hazel Holden, University of Wisconsin–Madison, Department of Biochemistry and Enzyme Institute; **рис. 4-11.** PDB ID 1CGD (с изм.), Bella, J., Brodsky, B., & Berman, H. M. (1995) Hydration structure of a collagen peptide. *Structure* 3, 893; **рис. 4-12.** Science Source/Photo Researchers; **с. 189.** Ethel Wedgwood (1906) *The Memoirs of the Lord of Joinville: A New English Version*, E. P. Dutton and Company, New York; (Lind) С любезного разрешения the Royal College of Physicians of Edinburgh; **рис. 4-13, а.** PDB ID 1SLK (модель), Fossey, S. A., Nemethy, G., Gibson, K. D., & Scheraga, H. A. (1991) Conformational energy studies of β -sheets of model silk fibroin peptides: I. Sheets of poly(Ala-Gly) chains. *Biopolymers* 31, 1529; **рис. 4-13, б.** Dr. Dennis Kunkel/Phototake NYC; **рис. 4-15.** PDB ID 1MBO; Phillips, S. E. V. (1980) Structure and refinement of oxymyoglobin at 1.6 angstroms resolution. *J. Mol. Biol.* 142, 531; **рис. 4-17, б.** PDB ID 7AHL; Song, L., Hobough, M. R., Shustak, C., Cheley, S., Bayley, H., & Gouaux, J. E. (1996) Structure of staphylococcal α hemolysin, a heptameric transmembrane pore. *Science* 274, 1859; **доп. 4-5, рис. 1, 2, 3.** George N. Phillips, Jr., University of Wisconsin–Madison, Department of Biochemistry; **доп. 4-5, рис. 1, 2.** PDB ID 2MBW; Brucker, E. A., Olson, J. S., Phillips, G. N., Jr., Dou, Y., & Ikeda-Saito, M. (1996) High resolution crystal structures of the deoxy-, oxy-, and aquomet- forms of cobalt myoglobin. *J. Biol. Chem.* 271, 25419; **доп. 4-5, рис. 2, 3, а.** Volkman, B. F., Alam, S. L., Satterlee, J. D., & Markley, J. L. (1998) Solution structure and backbone dynamics of component IV-glycera dibranchiata monomeric hemoglobin-CO. *Biochemistry* 37, 10,906; **доп. 4-5, рис 3, б, в.** Созданы Brian Volkman, National Magnetic Resonance Facility at Madison, с помощью MOLMOL; PDB ID 1VRF (б) and 1VRE (в), см. источник для доп. 4-5, рис. 2, 3, а; **рис. 4-18.**

PDB ID 4TNC, см. Источник для рис. 4-4, б, в; рис. 4-19, в; **рис. 4-19, в** PDB ID 1DNP, Park, H. W., Kim, S. T., Sancar, A., & Deisenhofer, J. (1995) Crystal structure of DNA photolyase from *Escherichia coli*. *Science* 268, 1866; **рис. 4-20** PDB ID 1PKN, Larsen, T. M., Laughlin, L. T., Holden, H. M., Rayment, I., & Reed, G. H. (1994) Structure of rabbit muscle pyruvate kinase complexed with Mn^{2+} , K^{+} , and pyruvate. *Biochemistry* 33, 6301; **рис. 4-21 (все α)** PDB ID 1A06, Sugio, S., Kashima, A., Mochizuki, S., Noda, M., & Kobayashi, K. (1999) Crystal structure of human serum albumin at 2.5 angstrom resolution. *Protein Eng.* 12, 439; PDB ID 1BCF, Frolow, F., Kalb (Gilboa), A. J., & Yariv, J. (1994) The structure of a unique, two-fold symmetric, haem-binding site. *Nat. Struct. Biol.* 1, 453; PDB ID 1GAI, Aleshin, A. E., Stoffer, B., Firsov, L. M., Svensson, B., & Honzatko, R. B. (1996) Crystallographic complexes of glucoamylase with maltooligosaccharide analogs: relationship of stereochemical distortions at the nonreducing end to the catalytic mechanism. *Biochemistry* 35, 8319; PDB ID 1ENH, Clarke, N. D., Kissinger, C. R., Desjarlais, J., Gilliland, G. L., & Pabo, C. O. (1994) Structural studies of the engrailed homeodomain. *Protein Sci.* 3, 1779; (все β) PDB ID 1LXA, Raetz, C. R. H. & Roderick, S. L. (1995) A left-handed parallel β -helix in the structure of UDP N-acetylglucosamine acyltransferase. *Science* 270, 997; PDB ID 1PEX, Gomis-Ruth, F. X., Gohlke, U., Betz, M., Knauper, V., Murphy, G., Lopez-Otin, C., & Bode, W. (1996) The helping hand of collagenase-3 (Mmp-13): 2.7 Å crystal structure of its C-terminal haemopexin-like domain. *J. Mol. Biol.* 264, 556; PDB ID 1CD8, Leahy, D. J., Axel, R., & Hendrickson, W. A. (1992) Crystal structure of a soluble form of the human T cell co-receptor Cd8 at 2.6 angstroms resolution. *Cell* 68, 1145; (α/β) PDB ID 1DEH, Davis, G. J., Stone, C. J., Bosron, W. F., & Hurley, T. D. (1996) X-ray structure of human $\beta_5\beta_3$ alcohol dehydrogenase: the contribution of ionic interactions to coenzyme binding. *J. Biol. Chem.* 271, 17,057; PDB ID 1DUB, Engel, C. K., Mathieu, M., Zeelen, J. P., Hiltunen, J. K., & Wierenga, R. K. (1996) Crystal structure of enoyl-coenzyme A (CoA) hydratase at 2.5 angstroms resolution: a spiral fold defines the CoA-binding pocket. *EMBO J.* 15, 5135; PDB ID 1PFK, Shirakihara, Y. & Evans, P. R. (1988) Crystal structure of the complex of phosphofructokinase from *Escherichia coli* with its reaction products. *J. Mol. Biol.* 204, 973; ($\alpha + \beta$) PDB ID 2PIL, Forest, K. T., Dunham, S. A., Koomey, M., & Tainer, J. A. (1999) Crystallographic structure of phosphorylated pilin from *Neisseria*: phosphoserine sites modify type IV pilus surface chemistry and morphology. *Mol. Microbiol.* 31, 743; PDB ID 1SYN, Stout, T. J. & Stroud, R. M. (1996) The complex of the anti-cancer therapeutic, BW1843U89, with thymidylate synthase at 2.0 Å resolution: implications for a new mode of inhibition. *Structure* 4, 67–77; PDB ID 1EMA, Ormo, M., Cubitt, A. B., Kallio, K., Gross, L. A., Tsien, R. Y., & Remington, S. J. (1996) Crystal structure of the *Aequorea victoria* green fluorescent protein. *Science* 273, 1392; **с. 205** (Перуц и Кендрю). Corbis/Hulton Deutsch Collection; **рис. 4-22.** PDB ID 2HHB,

Fermi, G., Perutz, M. F., Shaanan, B., & Fourme, R. (1984) The crystal structure of human deoxyhaemoglobin at 1.74 angstroms resolution. *J. Mol. Biol.* 175, 159; **рис. 4-24, а**. PDB ID 2PLV, Filman, D. J., Syed, R., Chow, M., Macadam, A. J., Minor, P. D., & Hogle, J. M. (1989) Structural factors that control conformational transitions and serotype specificity in type 3 poliovirus. *EMBO J.* 8, 1567, как представлено в базе данных VIPER, Shepherd, C. M., Borelli, I. A., Lander, G., Natarajan, P., Siddavanahalli, V., Bajaj, C., Johnson, J. E., Brooks, C. L. III, & Reddy, V. S. (2006) *Nucleic Acids Res.* 34, D386; **рис. 4-24, б**. Science Source/Photo Researchers; PDB ID 1VTM, Pattanayek, R. & Stubbs, G. (1992) Structure of the U2 strain of tobacco mosaic virus refined at 3.5 angstroms resolution using x-ray fiber diffraction. *J. Mol. Biol.* 228, 516; **рис. 4-25, а**. Data from Sendak, R. A., Rothwarf, D. M., Wedemeyer, W. J., Houry, W. A., & Scheraga, H. A. (1996) Kinetic and thermodynamic studies of the folding/unfolding of a tryptophan-containing mutant of ribonuclease A. *Biochemistry* 35, 12,978; Nishii, I., Kataoka, M., & Goto, Y. (1995) Thermodynamic stability of the molten globule states of apomyoglobin. *J. Mol. Biol.* 250, 223; **рис. 4-25, б**. Data from Houry, W. A., Rothwarf, D. M., & Scheraga, H. A. (1996) Circular dichroism evidence for the presence of burst-phase intermediates on the conformational folding pathway of ribonuclease A. *Biochemistry* 35, 10,125; **рис. 4-27**. С любезного разрешения Yong Duan и Peter A. Kollman, University of California, San Francisco, Department of Pharmaceutical Science; **рис. 4-28**. По Wolynes, P. G., Onuchic, J. N., & Thirumalai, D. (1995) Navigating the folding routes. *Science* 267, 1619; **рис. 4-30, б**. PDB ID 1AON, Xu, Z., Horwich, A. L., & Sigler, P. B. (1997) The crystal structure of the asymmetric GroEL-GroES-(ADP)7 chaperonin complex. *Nature* 388, 741; с изм.; **рис. 4-31, а**. По Selkoe, D. J. (2003) Folding proteins in fatal ways. *Nature* 426, 903, Fig. 1; с изм.; **рис. 4-31, б**. PDB ID 1IYT, Crescenzi, O., Tomaselli, S., Guerrini, R., Salvadori, S., D'Ursi, A. M., Temussi, P. A., & Picone, D. (2002) Solution structure of the Alzheimer amyloid β -peptide (1–42) in an apolar microenvironment: similarity with a virus fusion domain. *Eur. J. Biochem.* 269, 5642; **рис. 4-31, в**. PDB ID 2BEG, Lührs, T., Ritter, C., Adrian, M., Riek-Loher, D., Bohrmann, B., Döbeli, H., Schubert, D., & Riek, R. (2005) 3D structure of Alzheimer's amyloid- β (1–42) fibrils. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 102, 17,342; **доп. 4-6, рис. 1**. Stephen J. DeArmond; **доп. 4-6, рис. 2**. PDB ID 1QM0, Zahn, R., Liu, A., Lührs, T., Riek, R., von Schroetter, C., Garcia, F. L., Billeter, M., Calzolari, L., Wider, G., & Wüthrich, K. (2000) NMR solution structure of the human prion protein. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 97, 145.

ГЛАВА 5. С. 225. Emil Fischer (1906) Untersuchen über Aminosäuren, Polypeptide und Proteine (Studies of amino acids, polypeptides and proteins). *Berichte der deutschen chemischen Gesellschaft zu Berlin* 39, 530; **рис. 5-1, в**. Гем из PDB ID 1CCR, Ochi, H., Hata, Y., Tanaka, N., Kakudo, M., Sakurai, T., Aihara, S., & Morita, Y. (1983) Structure of rice ferricytochrome c at 2.0 angstroms resolution. *J.*

Mol. Biol. 166, 407; **рис. 5-3, 5-5, в, 5-6 (слева)**. PDB ID 1MBO, Phillips, S. E. V. (1980) Structure and refinement of oxymyoglobin at 1.6 angstroms resolution. *J. Mol. Biol.* 142, 531; **рис. 5-6 (справа), 5-8, 5-9, а, 5-10 (состояние Т), 5-11 (состояние Т)**. PDB ID 1HGA; Liddington, R., Derewenda, Z., Dodson, E., Hubbard, R., & Dodson, G. (1992) High resolution crystal structures and comparisons of T state deoxyhaemoglobin and two liganded T-state haemoglobins: T(α -oxy)haemoglobin and T(met)haemoglobin. *J. Mol. Biol.* 228, 551; **рис. 5-10 (состояние R), 5-11(состояние R)**. PDB ID 1BBB, Silva, M. M., Rogers, P. H., & Arnone, A. (1992) A third quaternary structure of human hemoglobin at a 1.7-angstroms resolution. *J. Biol. Chem.* 267, 17,248; на рис. 5-11 состояние R было изменено для того, чтобы отразить O₂ вместо CO; **доп. 5-1, рис. 1**. По Coburn, R. F., Forster, R. E., & Kane, P. B. (1965) Considerations of the physiological variables that determine the blood carboxyhemoglobin concentration in man. *J. Clin. Invest.* 44, 1899; с изм.; **доп. 5-1, рис. 2**. По Roughton, F. J. W. & Darling, R. C. (1944) The effect of carbon monoxide on the oxyhemoglobin dissociation curve. *Am. J. Physiol.* 141, 17; с изм.; **рис. 5-18**. PDB ID 1HGA; см. источник для рис. 5-6 (справа). Координаты для 2,3-бисфосфоглицерата взяты у Paul Reisberg, Wellesley College, Department of Chemistry; **рис. 5-19, а**. Andrew Syred/Science Photo Library/Custom Medical Stock Photo; **рис. 5-19, б**. Custom Medical Stock Photo; **рис. 5-21, б**. PDB ID 1IGT, Harris, L. J., Larson, S. B., Hasel, K. W., & McPherson, A. (1997) Refined structure of an intact IgG2A monoclonal antibody. *Biochemistry* 36, 1581; **рис. 5-25, а**. PDB ID 1GGC, Stanfield, R. L., Takimoto-Kamimura, M., Rini, J. M., Profy, A. T., & Wilson, I. A. (1993) Major antigen-induced domain rearrangements in an antibody. *Structure* 1, 83; **рис. 5-25, б, в**. PDB ID 1GGI, Rini, J. M., Stanfield, R. L., Stura, E. A., Salinas, P. A., Profy, A. T., & Wilson, I. A. (1993) Crystal structure of an human immunodeficiency virus type 1 neutralizing antibody, 50.1, in complex with its V3 loop peptide antigen. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 90, 6325; с. 254 (Келер и Мильштейн). Corbis/UPI/Bettmann; **рис. 5-26, б**. State of Wisconsin Laboratory of Hygiene, Madison, WI; **рис. 5-26, в**. Son, M., Gundersen, R. E., & Nelson, D. L. (1993) A second member of the novel Ca²⁺-dependent protein kinase family from *Paramecium tetraurelia*: purification and characterization. *J. Biol. Chem.* 268, 5940; **рис. 5-27, а**. David Shotton, University of Oxford, Department of Zoology; **рис. 5-27, в**. С любезного разрешения Ivan Rayment, University of Wisconsin–Madison, Enzyme Institute and Department of Biochemistry (см. также PDB ID 2MYS, Rayment, I., Rypniewski, W. R., Schmidt-Base, K., Smith, R., Tomchick, D. R., Benning, M. M., Winkelmann, D. A., Wesenberg, G., & Holden, H. M. (1993) Three-dimensional structure of myosin subfragment-1: a molecular motor. *Science* 261, 50); **рис. 5-28, а**. Eisaku Katayama, Institute of Medical Science, The University of Tokyo, Department of Fine Morphology; **рис. 5-28, б**. Roger Craig, University of Massachusetts

Medical School; **рис. 5-28, в.** См. источник для рис. 5-27, **в; рис. 5-29, б, в.** James E. Dennis/Phototake NYC.

ГЛАВА 6. С. 269. J. B. S. Haldane (1930) *Enzymes*, Longmans, Green & Co., London, p. 182; William P. Jencks (1975) Binding energy, specificity, and enzymic catalysis: the Circe effect. *Advances in Enzymology* 43, 219–410; **с. 270** (Бухнер) Science Photo Library/Photo Researchers; (Самнер и Холдейн) AP/Wide World Photos; **рис. 6-1.** PDB ID 7GCH, Brady, K., Wei, A., Ringe, D., & Abeles, R. H. (1990) Structure of chymotrypsin-trifluoromethyl ketone inhibitor complexes: comparison of slowly and rapidly equilibrating inhibitors. *Biochemistry* 29, 7600; **рис. 6-4.** PDB ID 1RA2, Sawaya, M.R. & Kraut, J. (1997) Loop and subdomain movements in the mechanism of *Escherichia coli* dihydrofolate reductase: crystallographic evidence. *Biochemistry* 36, 586; **с. 287** (Михаэлис) Rockefeller University Archive Center; (Ментен) С любезного разрешения Dorothy C. Craig; **рис. 6-18, б, в, г.** PDB ID 7GCH, см. источник для рис. 6-1; **рис. 6-22, а.** PDB ID 2YHX, Anderson, C. M., Stenkamp, R. E., & Steitz, T. A. (1978) Sequencing a protein by x-ray crystallography: II. Refinement of yeast hexokinase B coordinates and sequence at 2.1 angstroms. *J. Mol. Biol.* 123, 15; **рис. 6-22, б.** PDB ID 1HKG, Steitz, T. A., Shoham, M., & Bennett, W. S., Jr. (1981) Structural dynamics of yeast hexokinase during catalysis. *Philos. Trans. R. Soc. London Ser. B* 293, 43; координаты для глюкозы (GLC) с изм. взяты из PDB ID 1GLK, St. Charles, R., Harrison, R. W., Bell, G. I., Pilakis, S. J., & Weber, I. T. (1994) Molecular model of human beta-cell glucokinase built by analogy to the crystal structure of yeast hexokinase B. *Diabetes* 43, 784; **рис. 6-23, б.** PDB ID 1ONE, Larsen, T. M., Wedekind, J. E., Rayment, I., & Reed, G. H. (1996) A carboxylate oxygen of the substrate bridges the magnesium ions at the active site of enolase: structure of the yeast enzyme complexed with the equilibrium mixture of 2-phosphoglycerate and phosphoenolpyruvate at 1.8 Å resolution. *Biochemistry* 35, 4349; **рис. 6-24, а.** PDB ID 1LZE, Maenaka, K., Matsushima, M., Song, H., Sunada, F., Watanabe, K., & Kumagai, I. (1995) Dissection of protein-carbohydrate interactions in mutant hen egg-white lysozyme complexes and their hydrolytic activity. *J. Mol. Biol.* 247, 281; **рис. 6-25, а, б.** PDB ID 1H6M, Vocadlo, D. J., Davies, G. J., Laine, R., & Withers, S. G. (2001) Catalysis by hen egg-white lysozyme proceeds via a covalent intermediate *Nature* 412, 835; **доп. 6-3, рис. 1.** По Fersht, A. (1985) *Enzyme Structure and Mechanism*, 2nd edn, p. 318. © 1977, 1985 by W. H. Freeman and Company. Перепечатано с разрешения, с изм.; **рис. 6-32.** PDB ID 2AT2, Stevens, R. C., Reinisch, K. M., & Lipscomb, W. N. (1991) Molecular structure of *Bacillus subtilis* aspartate transcarbamoylase at 3.0 angstroms resolution. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 88, 6087. Координаты, зависящие от симметрии, представлены с любезного разрешения Raymond C. Stevens, University of California, Berkeley.

ГЛАВА 7. С. 339 E. B. White (1977) *Coon Tree*. In *Essays of E. B. White*, HarperCollins, Perennial Classics

edn, New York, 1999, pp. 47–48; **рис. 7-16.** С любезного разрешения Jack Scheper, Florida.com; **рис. 7-17, б.** Leroy Somon/Visuals Unlimited; **рис. 7-19.** С любезного разрешения H.-J. Gabius and Herbert Kaltner, University of Munich, с иллюстрации, предоставленной C.-W. von der Lieth, Heidelberg; **рис. 7-20, б.** PDB ID 1C58, Gessler, K., Uson, I., Takaha, T., Krauss, N., Smith, S. M., Okada, S., Sheldrick, G. M., & Saenger, W. (1999) V-Amylose at atomic resolution: x-ray structure of a cycloamylose with 26 glucose residues (cyclomaltohexaicosae). *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 96, 4246; **рис. 7-22.** PDB ID 1HPN, Mulloy, B., Forster, M. J., Jones, C., & Davies, D. B. (1993) N.m.r. and molecular-modelling studies of the solution conformation of heparin. *Biochem. J.* 293, 849; **рис. 7-23.** PDB ID 1E0O, Pellegrini, L., Burke, D. F., von Delft, F., Mulloy, B., & Blundell, T. L. (2000) Crystal structure of fibroblast growth factor receptor ectodomain bound to ligand and heparin. *Nature* 407, 1029; **рис. 7-25, а.** По Häker, U., Nybakken, K., & Perrimon, N. (2005) Heparan sulphate proteoglycans: the sweet side of development. *Nat. Rev. Mol. Cell Biol.* 6, 532; с изм.; **рис. 7-25, б, 7-26.** По Turnbull, J., Powell, A., & Guimond, S. (2001) Heparan sulfate: decoding a dynamic multifunctional cell regulator. *Trends Cell Biol.* 11, 75; с изм.; **рис. 7-27** врезка. С любезного разрешения Laurel Ng. Перепечатано с разрешения с Ng, L., Grodzinsky, A., Patwari, P., Sandy, J., Plaas, A. H. K., & Ortiz, C. (2003) Individual cartilage aggrecan macromolecules and their constituent glycosaminoglycans visualized via atomic force microscopy. *J. Struct. Biol.* 143, 242–257, Fig 7a left; **рис. 7-32.** R. M. Genta and D. Y. Graham, Veterans Affairs Medical Center, Houston, TX; **с. 374** (Маршалл, Уоррен). The Nobel Foundation; **рис. 7-33, а, б.** PDB ID 1M6P, Roberts, D. L., Weix, D. J., Dahms, N. M., & Kim, J. J. (1998) Molecular basis of lysosomal enzyme recognition: three-dimensional structure of the cation-dependent mannose 6-phosphate receptor. *Cell* 93, 639; **рис. 7-34.** По иллюстрации, представленной Dr. C.-W. von der Lieth, Heidelberg, в Gabius, H.-J. (2000) Biological information transfer beyond the genetic code: the sugar code. *Naturwissenschaften* 87, 108, Fig. 6; с изм.; **рис. 7-35.** По Sharon, N. & Lis, H. (1993) Carbohydrates in cell recognition. *Sci. Am.* 268 (January), 82; с изм.; **рис. 7-37.** С любезного разрешения Anne Dell. Перепечатано с разрешения из Comelli, E. M., Head, S. R., Gilmartin, T., Whisenant, T., Haslam, S. M., North, S. J., Wong, N.-K., Kudo, T., Narimatsu, H., Esko, J. D., Drickamer, K., Dell, A., & Paulson, J.C. (2006) A focused microarray approach to functional glycomics: transcriptional regulation of the glycome. *Glycobiology* 16, 117–131, Fig. 3.

ГЛАВА 8. С. 391. James D. Watson (1968) *The Double Helix: A Personal Account of the Discovery of the Structure of DNA*, Atheneum, New York; **с. 399** (Уотсон и Крик). Corbis/UPI/Bettmann; **рис. 8-12.** Science Source/Photo Researchers; **с. 401** (Франклин) Science Photo Library/Photo Researchers; (Уилкинс) Corbis/UPI/Bettmann; **рис. 8-13, б, в, 8-17.** Координаты рассчитаны при помощи Sybyl; **рис. 8-20, б.** PDB ID 1BCE, Asensio, J. L.,

Brown, T., & Lane, A. N. (1998) Comparison of the solution structures of intramolecular DNA triple helices containing adjacent and non-adjacent CG.C+ triplets. *Nucleic Acids Res.* 26, 3677; **рис. 8-20, з.** Теоретическая структура PDB ID 1QDG, Marathias, V. M., Wang, K. Y., Kumar, S., Swaminathan, S., & Bolton, P. H. (1996) Determination of the number and location of the manganese binding sites of DNA quadruplexes in solution by EPR and NMR in the presence and absence of thrombin. *J. Mol. Biol.* 260, 378; Figure 8-22 Coordinates generated by Sybyl; **рис. 8-24.** James, B., Olsen, G. J., Liu, J., & Pace, N. R. (1988) The secondary structure of ribonuclease P RNA, the catalytic element of a ribonucleoprotein enzyme. *Cell* 52, 19-26; **рис. 8-25, а.** PDB ID 1TRA, Westhof, E. & Sundaralingam, M. (1986) Restrained refinement of the monoclinic form of yeast phenylalanine transfer RNA: temperature factors and dynamics, coordinated waters, and base-pair propeller twist angles. *Biochemistry* 25, 4868; **рис. 8-25, б.** PDB ID 1MME, Scott, W. G., Finch, J. T., & Klug, A. (1995) The crystal structure of an all-RNA hammerhead ribozyme: a proposed mechanism for RNA catalytic cleavage. *Cell* 81, 991; **рис. 8-25, в.** PDB ID 1GRZ, Golden, B. L., Gooding, A. R., Podell, E. R., & Cech, T. R. (1998) A preorganized active site in the crystal structure of the *Tetrahymena* ribozyme. *Science* 282, 259; **рис. 8-27, б.** По Marmur, J. & Doty, P. (1962) Determination of the base composition of deoxyribonucleic acid from its thermal denaturation temperature. *J. Mol. Biol.* 5, 109; **рис. 8-28.** Ross B. Inman, University of Wisconsin-Madison, Department of Molecular Biology; **рис. 8-33, в.** Lloyd Smith, University of Wisconsin-Madison, Department of Chemistry; **рис. 8-34.** Данные предоставлены Lloyd Smith, University of Wisconsin-Madison, Department of Chemistry.

ГЛАВА 9. С. 433. Emile Zuckerkandl and Linus Pauling (1965) Molecules as documents of evolutionary history. *Journal of Theoretical Biology* 8, 357-366; (Бепр) с любезного разрешения Stanford Visual Art Services; (Бойер) с любезного разрешения Genentech, Inc.; (Коэн) с любезного разрешения Stanford Visual Art Services; **рис. 9-4.** Elizabeth A. Wood, University of Wisconsin-Madison, Department of Biochemistry; **рис. 9-15, а.** С любезного разрешения Kevin Strange and Michael Christensen, Vanderbilt University Medical Center, Department of Pharmacology; **доп. 9-1, рис. 1.** Phil Borden/PhotoEdit; **доп. 9-1, рис. 2, б.** С любезного разрешения Carol Bingham, Promega Corporation; **с. 458 (Коллинз)** Alex Wong/Newsweek; (Вентер) Mike Theiler/Reuters; **рис. 9-20.** По Wolfsberg, T. G., McEntyre, J., & Schuler, G. D. (2001) Guide to the draft human genome. *Nature* 409, 824, Fig. 1; с изм.; **рис. 9-23.** С любезного разрешения Patrick O. Brown, Stanford University School of Medicine, Department of Biochemistry; **рис. 9-24.** По Pandey, A. & Mann, M. (2000) Proteomics to study genes and genomes. *Nature* 405, 837, Fig. 7; с изм.; **рис. 9-29.** С любезного разрешения Keith Wood, University of California, San Diego, Department of Biology; **рис. 9-30** По Fischhoff, D. A. & Bowdish,

K. S. (1987) Insect tolerant transgenic tomato plants. *BioTechnology* 5, 807. Фотография печатается с любезного разрешения David Fischhoff, Monsanto Company; **рис. 9-31, а, б.** С любезного разрешения Chris Boerboom, University of Wisconsin-Madison, Department of Agronomy; **рис. 9-33.** С любезного разрешения Yorktown Technologies, LP, www.glofish.com.

ГЛАВА 10. С 487. Michel-Eugène Chevreul (1814) Chemical inquiries into the nature of several fatty substances, and particularly on their combinations with the alkalis. Of a new substance, called margarine, obtained from the soap made from the fat of pork and potash. *Philosophical Magazine* 44, 193; **рис. 10-2, а, б, 10-3.** Координаты с помощью Sybyl; **рис. 10-4, а.** Biological Photo Service; **рис. 10-4, б.** С любезного разрешения Howard Goodman, Harvard Medical School, Department of Genetics; **рис. 10-6, б.** William J. Weber/Visuals Unlimited; с. 501. Из Drabkin, D. L. (1958) Thudichum: Chemist of the Brain, University of Pennsylvania Press, источник: Thudichum, J. L. W. (1898) *Briefe über öffentliche Gesundheitspflege ihre bisherigen Leistungen und heutigen Aufgaben*, F. Pietzcker, Tübingen; **рис. 10-14.** Координаты с помощью Sybyl; **рис. 10-17.** PDB координаты предоставлены Dave Woodcock, Okanagan University College, Kelowna, British Columbia, Department of Chemistry; **доп. 10-2, рис. 2.** Herbert A. Fischler, Isaac Albert Research Institute of the Kingsbrook Jewish Medical Center; **с. 508 (Вейн, Бергретрём и Самуэльсон).** Ira Wyman/Sigma; **рис. 10-20, б.** С любезного разрешения Media Center, University of Wisconsin-Madison, Department of Biochemistry; с. 512 (Дам и Дойси) AP/Wide World Photos; **рис. 10-23 (кардинал) Dr. Dan Suda; (шерол) Richard Day/VIREO;** **рис. 10-25.** Christie, W. W. (1996) Beginners' guide to mass spectrometry of fatty acids: 2. General purpose derivatives. *Lipid Technol.* 8, 64.

ГЛАВА 11. С. 525. Robert Frost (1914) Mending Wall. In *North of Boston*, David Nutt, London; **рис. 11-1.** С любезного разрешения J. D. Robertson; **рис. 11-5.** Данные из Zachowski, A. (1993) Phospholipids in animal eukaryotic membranes: transverse asymmetry and movement. *Biochem. J.* 294, 1; **рис. 11-7.** По Marchesi, V. T., Furthmayr, H., & Tomita, M. (1976) The red cell membrane. *Annu. Rev. Biochem.* 45, 667; с изм.; **рис. 11-9.** PDB ID 2AT9, Mitsuoka, K., Hirai, T., Murata, K., Miyazawa, A., Kidera, A., Kimura, Y., & Fujiyoshi, Y. (1999) The structure of bacteriorhodopsin at 3.0 Å resolution based on electron crystallography: implication of the charge distribution. *J. Mol. Biol.* 286, 861; **рис. 11-10, а.** PDB ID 2B6O, Gonen, T., Cheng, Y., Sliz, P., Hiroaki, Y., Fujiyoshi, Y., Harrison, S. C., & Walz, T. (2005) Lipid-protein interactions in double-layered two-dimensional AQP0 crystals. *Nature* 438, 633; **рис. 11-10, б.** PDB ID 2BL2, Murata, T., Yamato, I., Kakinuma, Y., Leslie, A. G., & Walker, J. E. (2005) Structure of the rotor of the V-Type Na⁺-ATPase from *Enterococcus hirae*. *Science* 308, 654; **рис. 11-12.** PDB ID 1BL8, Doyle, D. A., Morais Cabral, J., Pfuetzner, R. A., Kuo, A., Gulbis,

- J. M., Cohen, S. L., Chait, B. T., & MacKinnon, R. (1998) The structure of the potassium channel: molecular basis of K^+ conduction and selectivity. *Science* 280, 69; PDB ID 1AF6, Wang, Y. F., Dutzler, R., Rizkallah, P. J., Rosenbusch, J. P., & Schirmer, T. (1997) Channel specificity: structural basis for sugar discrimination and differential flux rates in maltoporin. *J. Mol. Biol.* 272, 56; PDB ID 1QD5, Snijder, H. J., Ubarretxena-Belandia, I., Blaauw, M., Kalk, K. H., Verheij, H. M., Egmond, M. R., Dekker, N., & Dijkstra, B. W. (1999) Structural evidence for dimerization-regulated activation of an integral membrane phospholipase. *Nature* 401, 717; PDB ID 1QJ9, Vogt, J. & Schulz, G. E. (1999) The structure of the outer membrane protein OmpX from *Escherichia coli* reveals mechanisms of virulence. *Structure* 7, 1301; PDB ID 1PHO, Cowan, S. W., Schirmer, T., Rummel, G., Steiert, M., Ghosh, R., Paupit, R. A., Jansonius, J. N., & Rosenbusch, J. P. (1992) Crystal structures explain functional properties of two *E. coli* porins. *Nature* 358, 727; **рис. 11-13**. PDB ID 1FEP, Buchanan, S. K., Smith, B. S., Venkatramani, L., Xia, D., Esser, L., Palnitkar, M., Chakraborty, R., van der Helm, D., & Deisenhofer, J. (1999) Crystal structure of the outer membrane active transporter FepA from *Escherichia coli*. *Nat. Struct. Biol.* 6, 56; PDB ID 1QD5, Snijder, H. J., Ubarretxena-Belandia, I., Blaauw, M., Kalk, K. H., Verheij, H. M., Egmond, M. R., Dekker, N., & Dijkstra, B. W. (1999) Structural evidence for dimerization-regulated activation of an integral membrane phospholipase. *Nature* 401, 717; PDB ID 1MAL, Schirmer, T., Keller, T. A., Wang, Y. F., & Rosenbusch, J. P. (1995) Structural basis for sugar translocation through maltoporin channels at 3.1 Å resolution. *Science* 267, 512; **рис. 11-15**. Heller, H., Schaefer, M., & Schulten, K. (1993) Molecular dynamics simulation of a bilayer of 200 lipids, in the gel and in the liquid-crystal phases. *J. Phys. Chem.* 97, 8343; **рис. 11-18**. С любезного разрешения Takahiro Fujiwara, Ken Ritchie, Hideji Murakoshi, Ken Jacobson, and Akihiro Kusumi; **доп. 11-1, рис. 2, а**. С любезного разрешения Daniel J. Müller, Ueli Aebi и Andreas Engel, M. E. Müller Institute (MSB), Biozentrum, University of Basel; **доп. 11-1, рис. 2, б**. С любезного разрешения S. Scheuring, D. Fotiadis, C. Möller, S. A. Müller, A. Engel и D. J. Müller; **доп. 11-1, рис. 2, в**. С любезного разрешения Daniel J. Müller, Max-Planck Institute of Molecular Cell Biology and Genetics; **рис. 11-20, б**. По микрофотографии, любезно предоставленной J. M. Edwardson, University of Cambridge, Department of Pharmacology; с изм.; **рис. 11-21, а**. С любезного разрешения R. G. Parton. Перепечатано с разрешения из Parton, R. G. & Simons, K. (2007) The multiple faces of caveolae. *Nat. Rev. Mol. Cell Biol.* 8, 185–194, Fig. 1a; **рис. 11-23**. По Zimmerberg, J. & Kozlov, M. M. (2006) *Nat. Rev. Mol. Cell Biol.* 7, 15; с изм.; **рис. 11-24**. По Chen, Y. A. & Scheller, R. H. (2001) SNARE-mediated membrane fusion. *Nature* 2, 98; с изм.; **рис. 11-29, а, в**. По Mueckler, M. (1994) Facilitative glucose transporters. *Eur. J. Biochem.* 219, 713; с изм.; **доп. 11-2, рис. 1**. По Lienhard, F. E., Slot, J. W., James, D. E., & Mueckler, M. M. (1992) How cells absorb glucose. *Sci. Am.* 266 (January), 86; с изм.; **рис. 11-35**. PDB ID 1SU4, Toyoshima, C., Nakasako, M., Nomura, H., & Ogawa, H. (2000) Crystal structure of the calcium pump of sarcoplasmic reticulum at 2.6 angstrom resolution. *Nature* 405, 647; **рис. 11-36**. По Kühlbrandt, W. (2004) Biology, structure and mechanism of P-type ATPases. *Nat. Rev. Mol. Cell Biol.* 5, 291; с изм.; **с. 563** (Скоу). С любезного разрешения Information Office, University of Aarhus, Denmark; **рис. 11-41**. PDB ID 1L7V, Locher, K. P., Lee, A. T., & Rees, D. C. (2002) The *E. coli* BtuCD structure: a framework for ABC transporter architecture and mechanism. *Science* 296, 1091; **доп. 11-3, рис. 2**. Tom Moninger, University of Iowa, Ames; **рис. 11-43, а**. PDB ID 1PVL, Abramson, J., Smirnova, I., Kasho, V., Verner, G., Kaback, H. R., & Iwata, S. (2003) Structure and mechanism of the lactose permease of *Escherichia coli*. *Science* 301, 610; **рис. 11-43, б**. PDB ID 2CFQ, Mirza, O., Guan, L., Verner, G., Iwata, S., & Kaback, H. R. (2006) Structural evidence for induced fit and a mechanism for sugar/ H^+ symport in LacY. *EMBO J.* 25, 1177; **рис. 11-45**. Координаты рассчитал для The Virtual Museum of Minerals and Molecules, www.soils.wisc.edu/virtual_museum Phillip Barak, University of Wisconsin–Madison, Department of Soil Science, используя данные из Neupert-Laves, K. & Dobler, M. (1975) The crystal structure of a K^+ complex of valinomycin. *Helv. Chim. Acta* 58, 432; **с. 571** (Эгр). С любезного разрешения Royal Swedish Academy of Sciences; **рис. 11-46, а**. PDB ID 2B5F, Tornroth-Horsefield, S., Wang, Y., Hedfalk, K., Johanson, U., Karlsson, M., Tajkhorshid, E., Neutze, R., & Kjellbom, P. (2006) Structural mechanism of plant aquaporin gating. *Nature* 439, 688; **рис. 11-46, б**. По PDB ID 1J4N, Sui, H., Han, B.-G., Lee, J. K., Walian, P., & Jap, B. K. (2001) Structural basis of water-specific transport through the AQP1 water channel. *Nature* 414, 872; с изм.; с. 575 (Heep, Закман) The Nobel Foundation; (Маккиннон) С любезного разрешения Royal Swedish Academy of Sciences; **рис. 11-48 а, б**. PDB ID 1BL8, Doyle, D. A., Cabral, J. M., Pfuetzner, R. A., Kuo, A., Gulbis, J. M., Cohen, S. L., Chait, B. T., & MacKinnon, R. (1998) The structure of the potassium channel: molecular basis of K^+ conduction and selectivity. *Science* 280, 69; **рис. 11-48, в**. По Yellen, G. (2002) The voltage-gated potassium channels and their relatives. *Nature* 419, 37; с изм.; **рис. 11-49**. PDB ID 1J95, Zhou, M., Morais-Cabral, J. H., Mann, S., & MacKinnon, R. (2001) Potassium channel receptor site for the inactivation gate and quaternary amine inhibitors. *Nature* 411, 657; **рис. 11-50, а, б, г**. PDB ID 2A79, Long, S. B., Campbell, E. B., & MacKinnon, R. (2005) Crystal structure of a mammalian voltage-dependent Shaker family K^+ channel. *Science* 309, 897; **рис. 11-50, в**. По Gandhi, C. S. & Isacoff, E. Y. (2005) Shedding light on membrane proteins. *Trends Neurosci.* 28, 476.
- ГЛАВА 12. С. 591.** Earl W. Sutherland (1971) Nobel Address, www.nobel.se/medicine/laureates/1971/sutherland-lecture.html; **доп. 12-2, рис. 1** (Гилман) Office of News and Publications, The University of Texas Southwestern Medical Center at Dallas; (Родбелл) С любезного разрешения Andrew Rodbell; **доп. 12-2,**

- рис. 2.** PDB ID 5P21, Pai, E. F., Krenkel, U., Petsko, G. A., Goody, R. S., Kabsch, W., & Wittinghofer, A. (1990) Refined crystal structure of the triphosphate conformation of H-ras p21 at 1.35 Å resolution: implications for the mechanism of GTP hydrolysis. *EMBO J.* 9, 2351; **доп. 12-2, рис. 3.** По Vetter, I. R. & Wittinghofer, A. (2001) The guanine nucleotide-binding switch in three dimensions. *Science* 294, 1300, Fig. 3; с изм.; **рис. 12-6, б.** PDB ID 1U7E, Kim, C., Xuong, N.-H., & Taylor, S. S. (2005) Crystal structure of a complex between the catalytic and regulatory (RI α) subunits of PKA. *Science* 307, 690; **доп. 12-3, рис. 1.** Chris Parks/ImageQuest Marine; **доп. 12-3, рис. 2.** PDB ID 1GFL, Yang, F., Moss, L. G., & Phillips, G. N., Jr. (1996) The molecular structure of green fluorescent protein. *Nat. Biotechnol.* 14, 1246; **рис. 12-11, а.** PDB ID 1CLL, Chattopadhyaya, R., Meador, W. E., Means, A. R., & Quiocho, F. (1992) A calmodulin structure refined at 1.7 angstroms resolution. *J. Mol. Biol.* 228, 1177; **рис. 12-11, б, в.** PDB ID 1CDL, Meador, W. E., Means, A. R., & Quiocho, F. A. (1992) Target enzyme recognition by calmodulin: 2.4 angstroms structure of a calmodulin-peptide complex. *Science* 257, 1251; **рис. 12-12, а.** С любезного разрешения Michael D. Cahalan, University of California, Irvine, Department of Physiology and Biophysics; **рис. 12-12, б.** Rooney, T. A., Sass, E. J., & Thomas, A. P. (1989) Characterization of cytosolic calcium oscillations induced by phenylephrine and vasopressin in single fura-2-loaded hepatocytes. *J. Biol. Chem.* 264, 17,131; **рис. 12-13.** По Foksett, J. K., White, C., Cheung, K.-H., & Mak, D.-O. D. (2007) Inositol trisphosphate receptor Ca²⁺ release channels. *Physiol. Rev.* 87, 593; **рис. 12-14, б.** (Рецептор инсулина) с изм. из PDB ID 2DTG, McKern, N. M., Lawrence, M. C., Streltsov, V. A., Lou, M.-Z., Adams, T. E., Lovrecz, G. O., Elleman, T. C., Richards, K. M., Bentley, J. D., Pilling, P. A., Hoyle, P. A., Cartledge, K. A., Pham, T. M., Lewis, J. L., Sankovich, S. E., Stoichevska, V., Da Silva, E., Robinson, C. P., Frenkel, M. J., Sparrow, L. G., Fernley, R. T., Epa, V. C., & Ward, C. W. (2006) Structure of the insulin receptor ectodomain reveals a folded-over conformation. *Nature* 443, 218; (инсулин) PDB ID 2CEU, Whittingham, J. L., Zhang, Y., Zakova, L., Dodson, E. J., Turkenburg, J. P., & Dodson, G. G. (2006) I222 crystal form of desptapeptide (B26-B30) insulin provides new insights into the properties of monomeric insulin. *Acta Crystallogr. D Biol. Crystallogr.* 62, 505–511; **рис. 12-14, в.** PDB ID 11RK, Hubbard, S. R., Wei, L., Ellis, L., & Hendrickson, W. A. (1994) Crystal structure of the tyrosine kinase domain of the human insulin receptor. *Nature* 372, 746; **рис. 12-14, г.** PDB ID 11R3, Hubbard, S. R. (1997) Crystal structure of the activated insulin receptor tyrosine kinase in complex with peptide substrate and ATP analog. *EMBO J.* 16, 5572; **рис. 12-21.** PDB ID 1SHC, Zhou, M. M., Ravichandran, K. S., Olejniczak, E. F., Petros, A. M., Meadows, R. P., Sattler, M., Harlan, J. E., Wade, W. S., Burakoff, S. J., & Fesik, S. W. (1995) Structure and ligand recognition of the phosphotyrosine binding domain of Shc. *Nature* 378, 584; **рис. 12-23.** По Pawson, T., Gish, G. D., & Nash, P. (2001) SH2 domains, interaction modules and cellular wiring. *Trends Cell Biol.* 11, 504, Fig. 5; с изм.; **рис. 12-26.** По Taylor, R. (1994) Evolutions: the voltage-gated sodium channel. *J. NIH Res.* 6, 112; с изм.; **рис. 12-27, а, б.** По Changeux, J. P. (1993) Chemical signaling in the brain. *Sci. Am.* 269 (November), 58; с изм.; **рис. 12-33.** По Ouaked, F., Rozhon, W., Lecourieux, D., & Hirt, H. (2003) A MAPK pathway mediates ethylene signaling in plants. *EMBO J.* 22, 1282; с изм.; **рис. 12-34.** По Tichtinsky, G., Vanoosthuysen, V., Cock, J. M., & Gaude, T. (2003) Making inroads into plant receptor kinase signalling pathways. *Trends Plant Sci.* 8, 231, Fig. 1; с изм.; **рис. 12-37.** PDB ID 1BAC, Chou, K.-C., Caracci, L., Maggiora, G. M., Parodi, L. A., & Schulz, M. W. (1992) An energy-based approach to packing the 7-helix bundle of bacteriorhodopsin. *Protein Sci.* 1, 810; **рис. 12-39.** По Nathans, J. (1989) The genes for color vision. *Sci. Am.* 260 (February), 42; с изм.; **доп. 12-4, рис. 1.** С любезного разрешения Professor J. D. Mollon, Cambridge University, Department of Experimental Psychology; **рис. 12-44, а.** PDB ID 1HCK, Schulze-Gahmen, U., De Bondt, H. L., & Kim, S.-H. (1996) High-resolution crystal structures of human cyclin-dependent kinase 2 with and without ATP: bound waters and natural ligand as guides for inhibitor design. *J. Med. Chem.* 39, 4540; **рис. 12-44, б.** PDB ID 1FIN, Jeffrey, P. D., Russo, A. A., Polyak, K., Gibbs, E., Hurwitz, J., Massague, J., & Pavletich, N. P. (1995) Mechanism of Cdk activation revealed by the structure of a cyclin a-Cdk2 complex. *Nature* 376, 313; **рис. 12-44, в.** PDB ID 1JST, Russo, A. A., Jeffrey, P. D., & Pavletich, N. P. (1996) Structural basis of cyclin-dependent kinase activation by phosphorylation. *Nat. Struct. Biol.* 3, 696; **рис. 12-45.** Данные из Pines, J. (1999) Four-dimensional control of the cell cycle. *Nat. Cell Biol.* 1, E73; **доп. 12-5, рис. 1.** CNRI/Photo Researchers; **доп. 12-5, рис. 2.** PDB ID 1S9I, Ohren, J. F., Chen, H., Pavlovsky, A., Whitehead, C., Zhang, E., Kuffa, P., Yan, C., McConnell, P., Spessard, C., Banotai, C., Mueller, W. T., Delaney, A., Omer, C., Sebolt-Leopold, J., Dudley, D. T., Leung, I. K., Flamme, C., Warmus, J., Kaufman, M., Barrett, S., Tecle, H., & Hasemann, C. A. (2004) Structures of human MAP kinase kinase 1 (MEK1) and MEK2 describe novel noncompetitive kinase inhibition. *Nat. Struct. Mol. Biol.* 11, 1192; **доп. 12-5, рис. 3, а.** PDB ID 11EP, Nagar, B., Bornmann, W., Pellicena, P., Schindler, T., Veach, D. R., Miller, W. T., Clarkson, B., & Kuriyan, J. (2002) Crystal structures of the kinase domain of c-Abl in complex with the small molecule inhibitors PD173955 and imatinib (STI-571). *Cancer Res.* 62, 4236; **доп. 12-5, рис. 3, б.** PDB ID 1M17, Stamos, J., Sliwkowski, M. X., & Eigenbrot, C. (2002) Structure of the epidermal growth factor receptor kinase domain alone and in complex with a 4-anilinoquinazoline inhibitor. *J. Biol. Chem.* 277, 46,265; **доп. 12-5, рис. 3, в.** PDB ID 1S9I, см. источник для **доп. 12-5, рис. 2**; **доп. 12-5, рис. 3, г.** PDB ID 2A4L, De Azevedo, W. F., Leclerc, S., Meijer, L., Havlicek, L., Strnad, M., & Kim, S. H. (1997) Inhibition of cyclin-dependent kinases by purine analogues: crystal structure of human

cdk2 complexed with roscovitine. *Eur. J. Biochem.* 243, 518; **рис. 12-50**. По Kinzler, K. W. & Vogelstein, B. (1996) Lessons from hereditary colorectal cancer. *Cell* 87, 159; с изм.

Том 2

ГЛАВА 13. С. 11. Rudolf Clausius (1865) Über Verschiedene für die Anwendung bequeme Formen der Hauptgleichungen der mechanischen Wärmetheorie (On several convenient forms of the second fundamental equations of the mechanical theory of heat). In *The Mechanical Theory of Heat with Its Applications to the Steam-Engine and to the Physical Properties of Bodies* (Tyndall, J., trans.), John van Voorst, London, p. 365; François Jacob (1970) *The Logic of Life: A History of Heredity*, Pantheon Books, Inc., New York, 1973; оригинальная публикация (1970) *La logique du vivant: une histoire de l'hérédité*, Editions Gallimard, Paris; (Лавуазье) The Granger Collection; **с. 12**. © Sidney Harris; **рис. 13-7**. По Layer, G., Heinz, D. W., Hahn, D., & Schubert, W.-D. (2004) Structure and function of radical SAM enzymes. *Curr. Opin. Chem. Biol.* 8, 472, Fig. 4; с изм.; **доп. 13-1, рис. 1**. E. R. Degginger/Photo Researchers; **рис. 13-25**. PDB ID 1LDH, White, J. L., Hackert, M. L., Buehner, M., Adams, M. J., Ford, G. C., Lentz, P. J., Jr., Smiley, I. E., Steindel, S. J., & Rossmann, M. G. (1976) A comparison of the structures of apo dogfish M4 lactate dehydrogenase and its ternary complexes. *J. Mol. Biol.* 102, 759; **с. 53** (Стронг, Эльвейем) С любезного разрешения University of Wisconsin–Madison, Department of Biochemistry; (Були) Rockefeller Archive Center.

ГЛАВА 14. С. 65. Arthur Harden (1923) *Alcoholic Fermentation*, 3d edn, Longmans, Green and Co., London; **с. 66** (Эйлер-Челин) Austrian Archives/Corbis; (Эмбден) С любезного разрешения Institut für Biochemie I: Molekulare Bioenergetik, Universitaetsklinikum Frankfurt, ZBC; (Мейерофф) Hulton-Deutsch Collection/Corbis; **с. 71** (Гарден) Hulton Getty/Liaison; (Янг) С любезного разрешения Medical History Museum, The University of Melbourne; **с. 80** (Варбур) Hulton Archive by Getty Images; **доп. 14-1, рис. 3**. ISM/Phototake; **доп. 14-2**. Animals Animals; **доп. 14-3, рис. 1**. Charles O'Rear/CORBIS.

ГЛАВА 15. С. 121. C. F. Cori and G. T. Cori (1929) Glycogen formation in the liver from d- and l-lactic acid. *Journal of Biological Chemistry* 81, 389–403; Alfred A. Knopf, New York; **рис. 15-1**. www.genome.ad.jp/kegg/pathway/map/map01100.html; **с. 132** (Бухнер) The Nobel Foundation; **рис. 15-7**. Данные из Torres, N. V., Mateo, F., Melendez-Hevia, E., & Kacser, H. (1986) Kinetics of metabolic pathways: a system in vitro to study the control of flux. *Biochem. J.* 234, 169; **доп. 15-1, рис. 2**. Fell, D. (1997) *Understanding the Control of Metabolism*, Portland, London, p. 103; **рис. 15-14, а**. PDB ID 1PFK, Shirakihara, Y. & Evans, P. R. (1988) Crystal structure of the complex

of phosphofructokinase from *Escherichia coli* with its reaction products. *J. Mol. Biol.* 204, 973; **рис. 15-18, а**. PDB ID 2NPP, Xu, Y., Xing, Y., Chen, Y., Chao, Y., Lin, Z., Fan, E., Yu, J. W., Strack, S., Jeffrey, P. D., & Shi, Y. (2006) Structure of the protein phosphatase 2A holoenzyme. *Cell* 127, 1239; **рис. 15-23**. По Chakravarty, K., Cassuto, H., Reshef, L., & Hanson, R. W. (2005) *Crit. Rev. Biochem. Mol. Biol.* 40, 133, Fig. 2; с изм.; **рис. 15-24**. BCC Microimaging перепечатано с разрешения; **с. 158** (Лелуар) The Nobel Foundation; **доп. 15-4** (Кори) AP; **рис. 15-32**. PDB ID 1LL2, Gibbons, B. J., Roach, P. J., & Hurley, T. D. (2002) Crystal structure of the autocatalytic initiator of glycogen biosynthesis, glycogenin. *J. Mol. Biol.* 319, 463; **с. 165** (Сазерленд) The Nobel Foundation.

ГЛАВА 16. С. 182. H. A. Krebs and W. A. Johnson (1937) The role of citric acid in intermediate metabolism in animal tissues. *Enzymologia* 4, 148; **с. 183** (Кребс) С любезного разрешения Public Relations Office, University of Sheffield; **рис. 16-5, а, б**. С любезного разрешения Dr. Z. Hong Zhou, University of Texas–Houston Medical School, Department of Pathology and Laboratory Medicine; **рис. 16-8, а**. PDB ID 5CSC, Liao, D.-I., Karpusas, M., & Remington, S. J. (1991) Crystal structure of an open conformation of citrate synthase from chicken heart at 2.8-Å resolution. *Biochemistry* 30, 6031; **рис. 16-8, б**. PDB ID 5CTS, Karpusas, M., Branchaud, B., & Remington, S. J. (1990) Proposed mechanism for the condensation reaction of citrate synthase: 1.9-angstroms structure of the ternary complex with oxaloacetate and carboxymethyl coenzyme A. *Biochemistry* 29, 2213; **рис. 16-9**. По Remington, J. S. (1992) Mechanisms of citrate synthase and related enzymes (triose phosphate isomerase and mandelate racemase). *Curr. Opin. Struct. Biol.* 2, 730; с изм.; **доп. 16-1, рис. 1**. По Eisenstein, R. S. (2000) Iron regulatory proteins and the molecular control of mammalian iron metabolism. *Annu. Rev. Nutr.* 20, 637, Fig. 1; с изм.; **доп. 16-1, рис. 2, а**. PDB ID 2B3Y, Dupuy, J., Volbeda, A., Carpentier, P., Darnault, C., Moulis, J. M., & Fontecilla-Camps, J. C. (2006) Crystal structure of human iron regulatory protein 1 as cytosolic aconitase. *Structure* 14, 129; **Box доп. 16-1, рис. 2, б**. PDB ID 2IPY, Walden, W. E., Selezneva, A. I., Dupuy, J., Volbeda, A., Fontecilla-Camps, J. C., Theil, E. C., & Volz, K. (2006) Structure of dual function iron regulatory protein 1 complexed with ferritin IRE-RNA. *Science* 314, 1903; **рис. 16-12, б**. PDB ID 1SCU, Wolodko, W. T., Fraser, M. E., James, M. N. G., & Bridger, W. A. (1994) The crystal structure of succinyl-CoA synthetase from *Escherichia coli* at 2.5 angstroms resolution. *J. Biol. Chem.* 269, 10,883; **рис. 16-21**. Richard N. Trelease, Arizona State University, Department of Botany.

ГЛАВА 17. С. 225. John Clarke (1639) *Paroemiologia Anglo-Latina (Proverbs English and Latin)*, imprinted by F. Kingston for R. Mylbourne, London; **доп. 17-1**. Stouffer Productions/Animals Animals; **доп. 17-2** (Ходжкин) The Nobel Foundation.

ГЛАВА 18. С. 261. Hans Krebs (1970) The history of

the tricarboxylic acid cycle. *Perspectives in Biology and Medicine* 14, 154–170, 161–162; **рис. 18-5, а, з, д.** PDB ID 1AJS, Rhee, S., Silva, M. M., Hyde, C. C., Rogers, P. H., Metzler, C. M., Metzler, D. E., & Arnone, A. (1997) Refinement and comparisons of the crystal structures of pig cytosolic aspartate aminotransferase and its complex with 2-methylaspartate. *J. Biol. Chem.* 272, 17,293.

ГЛАВА 19. С. 305. Claude Bernard (1865) *An Introduction to the Study of Experimental Medicine* (H. C. Greene, trans.), Harry Schumann, Paris. Reprinted (1957) by Dover Publications, New York; Peter Mitchell (1979) Keilin's respiratory chain concept and its chemiosmotic consequences. *Science* 206, 1148–1159; **с. 306** (Ленинджер) Alan Mason Chesney Medical Archives of The Johns Hopkins Medical Institutions; **рис. 19-5, з.** PDB ID 1FRD, Jacobson, B. L., Chae, Y. K., Markley, J. L., Rayment, I., & Holden, H. M. (1993) Molecular structure of the oxidized, recombinant, heterocyst (2Fe-2S) ferredoxin from *Anabaena* 7120 determined to 1.7 ångströms resolution. *Biochemistry* 32, 6788; **рис. 19-9.** PDB ID 2FUG, Sazanov, L. A. & Hinchliffe, P. (2006) Structure of the hydrophilic domain of respiratory complex I from *Thermus thermophilus*. *Science* 311, 1430; **рис. 19-10.** PDB ID 1ZOY, Sun, F., Huo, X., Zhai, Y., Wang, A., Xu, J., Su, D., Bartlam, M., & Rao, Z. (2005) Crystal structure of mitochondrial respiratory membrane protein Complex II. *Cell* 121, 1043; **рис. 19-11, а.** PDB ID 1BGY, Iwata, S., Lee, J. W., Okada, K., Lee, J. K., Iwata, M., Rasmussen, B., Link, T. A., Ramaswamy, S., & Jap, B. K. (1998) Complete structure of the 11-subunit bovine mitochondrial cytochrome bc₁ complex. *Science* 281, 64; **рис. 19-13.** PDB ID 1OCC, Tsukihara, T., Aoyama, H., Yamashita, E., Tomizaki, T., Yamaguchi, H., Shinzawa-Itoh, K., Nakashima, R., Yaono, R., & Yoshikawa, S. (1996) The whole structure of the 13-subunit oxidized cytochrome c oxidase at 2.8 Å. *Science* 272, 1136; **рис. 19-14.** По Williams, R. J. P. (1995) *Nature* 378, 235; с изм., исправлено по сравнению с Williams, R. J. P. (1995) Purpose of proton pathways. *Nature* 376, 643; **рис. 19-15, а, б.** С любезного разрешения Egbert Boekema. Перепечатано с разрешения из Heinemeyer, J., Braun, H.-P., Boekema, E. J., & Kour, R. (2007) A structural model of the cytochrome c reductase/oxidase supercomplex from yeast mitochondria. *J. Biol. Chem.* 282, 12,240–12,248, Figs 4A and 5A; **с. 327** (Митчелл) AP/Wide World Photos; **доп. 19-1, рис. 1.** D. Cavagnaro/Visuals Unlimited; **с. 331** (Рэкер) С любезного разрешения E. Racker; **рис. 19-16.** PDB ID 2FUG, 1ZOY, 1BGY и 1OCC; см. источники для рис. 19-9, 19-10, 19-11, а и 19-13; PDB ID 1HRC, Bushnell, G. W., Louie, G. V., & Brayer, G. D. (1990) High-resolution three-dimensional structure of horse heart cytochrome c. *J. Mol. Biol.* 214, 585; **рис. 19-23, б.** PDB ID 1BMF, Abrahams, J. P., Leslie, A. G., Lutter, R., & Walker, J. E. (1994) Structure at 2.8 Å resolution of F₁-ATPase from bovine heart mitochondria. *Nature* 370, 621; **рис. 19-25, б, в.** PDB ID 1BMF, см. источник для рис. 19-23, б; **с. 333** (Уокер) The Nobel Foundation; **рис. 19-25 з, д.** PDB ID 1QO1, Stock, D., Leslie, A. G. W., & Walker, J. E. (1999)

Molecular architecture of the rotary motor in ATP synthase. *Science* 286, 1700; белковая основа рассчитана из данных Cα PDB с помощью MIDAS-PLUS и Sybyl; **рис. 19-25, е.** По Fillingame, R. H. (1999) Protein structure: molecular rotary motors. *Science* 286, 1687; **с. 336** (Бойер) The Nobel Foundation; **рис. 19-27 (слева).** По Sambongi, Y., Iko, Y., Tanabe, M., Omote, H., Iwamoto-Kihara, A., Ueda, I., Yanagida, T., Wada, Y., & Futai, M. (1999) Mechanical rotation of the c subunit oligomer in ATP synthase (F₀F₁): direct observation. *Science* 286, 1722–1724; с изм.; **рис. 19-27 (справа).** С любезного разрешения Ryohei Yasuda и Kazuhiko Kinoshita из Yasuda, R., Noji, H., Kinoshita, K., Jr., & Yoshida, M. (1998) F₁-ATPase is a highly efficient molecular motor that rotates with discrete 120° steps. *Cell* 93, 1117; **рис. 19-31.** PDB ID 1OHH, Cabezon, E., Montgomery, M. G., Leslie, A. G. W., & Walker, J. E. (2003) The structure of bovine F₁-ATPase in complex with its regulatory protein IF1. *Nat. Struct. Biol.* 10, 744; **рис. 19-32.** По Harris, D. A. (1995) *Bioenergetics at a Glance*, Blackwell Science, London, p. 36; с изм.; **рис. 19-35.** Don W. Fawcett/Photo Researchers; **рис. 19-37.** По Riedl, S. J. & Salvesen, G. S. (2007) The apoptosome: signaling platform of cell death. *Nat. Rev. Mol. Cell Biol.* 8, 409, Fig. 3; с изм.; **рис. 19-38, а.** Morris, M.A. (1990) Mitomutations in neuro-ophthalmological diseases: a review. *J. Clin. Neuroophthalmol.* 10, 159; **рис. 19-38, б.** Из Wallace, D., Zheng, X., Lott, M. T., Shoffner, J. M., Hodge, J. A., Kelley, R. I., Epstein, C. M., & Hopkins, L. C. (1988) Familial mitochondrial encephalomyopathy (MERRF): genetic, pathophysiological, and biochemical characterization of a mitochondrial DNA disease. *Cell* 55, 601; **рис. 19-40.** Michael W. Davidson, Florida State University; **рис. 19-41, б.** С любезного разрешения Rob Taylor. Перепечатано с разрешения из Taylor, R. W. & Turnbull, D.M. (2005) Mitochondrial DNA mutations in human disease. *Nat. Rev. Genet.* 6, 389–402, Fig. 2a; **рис. 19-45, б.** Biological Photo Service; **рис. 19-49.** PDB ID 2BHW, Standfuss, J., Terwisscha van Scheltinga, A. C., Lamborghini, M., & Kuhlbrandt, W. (2005) Mechanisms of photoprotection and nonphotochemical quenching in pea light-harvesting complex at 2.5 Å resolution. *EMBO J.* 24, 919; **рис. 19-50, 19-54, а, б, 19-60, б, 19-61, 19-65.** По Heldt, H.-W. (1997) *Plant Biochemistry and Molecular Biology*, Oxford University Press, Oxford, pp. 57, 62, 63, 100, 101, 133; **рис. 19-55.** PDB ID 1PRC, Deisenhofer, J., Epp, O., Sinning, I., & Michel, H. (1995) Crystallographic refinement at 2.3 ångströms resolution and refined model of the photosynthetic reaction center from *Rhodospseudomonas viridis*. *J. Mol. Biol.* 246, 429; **рис. 19-57.** По Rutherford, A.W. & Faller, P. (2001) The heart of photosynthesis in glorious 3D. *Trends Biochem. Sci.* 26, 341, Fig. 1; с изм.; **рис. 19-58, а.** По Kuhlbrandt, W. (2001) Structural biology: chlorophylls galore. *Nature* 411, 896, Fig. 1; **рис. 19-58, б, в.** PDB ID 1JBO, Nield, J., Rizkallah, P. J., Barber, J., & Chayen, N. E. (2003) The 1.45 Å three-dimensional structure of c-phycocyanin from the thermophilic cyanobacterium *Synechococcus elongatus*. *J. Struct. Biol.* 141, 149; **рис. 19-59, а, б** PDB ID 1UM3,

Kurusu, G., Zhang, H., Smith, J. L., & Cramer, W. A. (2003) Structure of the cytochrome b6 f complex of oxygenic photosynthesis: tuning the cavity. *Science* 302 1009; **с. 382** (Арнон) University of California, Berkeley; **с. 383** (Ягендорф) Cornell University; **рис. 19-60, а.** PDB ID 2AXT, Loll, B., Kern, J., Saenger, W., Zouni, A., & Biesiadka, J. (2005) Towards complete cofactor arrangement in the 3.0 Å resolution structure of photosystem II. *Nature* 438, 1040; PDB ID 2E74, Yamashita, E., Zhang, H., & Cramer, W. A. (2007) Structure of the cytochrome b6 f complex: quinone analogue inhibitors as ligands of heme c_n. *J. Mol. Biol.* 370, 39; PDB ID 1A70, Binda, C., Coda, A., Aliverti, A., Zanetti, G., & Mattevi, A. (1998) Structure of the mutant E92K of [2Fe-2S] ferredoxin I from *Spinacia oleracea* at 1.7 Å resolution. *Acta Crystallogr. D Biol. Crystallogr.* 54, 1353; PDB ID 1AG6, Xue, Y., Okvist, M., Hansson, O., & Young, S. (1998) Crystal structure of spinach plastocyanin at 1.7 Å resolution. *Protein Sci.* 7, 2099; PDB ID 2O01, Amunts, A., Drory, O., & Nelson, N. (2007) The structure of a plant photosystem I supercomplex at 3.4 Å resolution. *Nature* 447, 58; PDB ID 1QG0, Deng, Z., Aliverti, A., Zanetti, G., Arakaki, A. K., Ottado, J., Orellano, E. G., Calcaterra, N. B., Ceccarelli, E. A., Carrillo, N., & Karplus, P. A. (1999) A productive NADP⁺ binding mode of ferredoxin-NADP⁺ reductase revealed by protein engineering and crystallographic studies. *Nat. Struct. Biol.* 6, 847; PDB ID 1QO1, см. источник для рис. 19-25, з, д; **рис. 19-66, а.** PDB ID 1C8R, Luecke, H., Schobert, B., Richter, H.-T., Cartailier, J.-P., & Lanyi, J. K. (1999) Structural changes in bacteriorhodopsin during ion transport at 2 Å resolution. *Science* 286, 255; **рис. 19-66, б.** По Gennis, R. B. & Ebrey, T. G. (1999) Proton pump caught in the act. *Science* 286, 252; с изм.

ГЛАВА 20. С. 403. Melvin Calvin (1961) Nobel Address, www.nobel.se/chemistry/laureates/1961/calvin-lecture.html; **рис. 20-1.** PhotoDisc; с. 405 (Кальвин) The Nobel Foundation; **рис. 20-2.** Ken Wagner/Visuals Unlimited; **рис. 20-5, а.** PDB ID 8RUC, Andersson, I. (1996) Large structures at high resolution: the 1.6 angstroms crystal structure of spinach ribulose-1,5-bisphosphate carboxylase/oxygenase complexed with 2-carboxyarabinitol bisphosphate. *J. Mol. Biol.* 259, 160; **рис. 20-5, б.** PDB ID 9RUB, Lundqvist, T. & Schneider, G. (1991) Crystal structure of activated ribulose-1,5-bisphosphate carboxylase complexed with its substrate, ribulose-1,5-bisphosphate. *J. Biol. Chem.* 266, 12,604; **рис. 20-6.** PDB ID 1RCX, Taylor, T. C. & Andersson, I. (1997) The structure of the complex between rubisco and its natural substrate ribulose 1,5-bisphosphate. *J. Mol. Biol.* 265, 432; **рис. 20-18.** Halliwell, B. (1984) *Chloroplast Metabolism: The Structure and Function of Chloroplasts in Green Leaf Cells*, Clarendon Press, Oxford, p. 97; **рис. 20-23, а.** Ray Evert, University of Wisconsin–Madison, Department of Botany; **рис. 20-29** (целлюлоза) Ken Wagner/Visuals Unlimited; рисунок по Becker, W. M. & Deamer, D. W. (1991) *The World of the Cell*, 2nd edn, The Benjamin/Cummings Publishing Company, Inc., Redwood City, CA, p. 60, Fig. 3-20; **рис. 20-**

30, врезка. С любезного разрешения Mark J. Grimson, Texas Tech University, and Candace H. Haigler, North Carolina State University; **с. 443** (задача 19). С любезного разрешения Elena V. Voznesenskaya, Vincent R. Franceschi, Olavi Kuirats, Elena G. Artyusheva, Helmut Freitag, и Gerald E. Edwards.

ГЛАВА 21. С. 445. Konrad Bloch (1987) Summing up. *Annual Review of Biochemistry* 56, 10; **рис. 21-3, а.** PDB ID 2CF2, Maier, T., Jenni, S., Ban, N. (2006) Architecture of mammalian fatty acid synthase at 4.5 Å resolution. *Science* 311, 1258; **рис. 21-3, б.** PDB IDs 2UV9, 2UVA, 2UVB, and 2UVC, Jenni, S., Leibundgut, M., Boehringer, D., Frick, C., Mikolasek, B., Ban, N. (2007) Structure of fungal fatty acid synthase and implications for iterative substrate shuttling. *Science* 316, 254; **рис. 21-11, б.** Daniel Lane, The Johns Hopkins University, School of Medicine; с. 472 (Кеннеди) Harvard Medical School; **с. 484** (Блох, Линеен, Корнфорт) AP/Wide World Photos; (Попьяк) Corbis/UPI/Bettmann; **рис. 21-39, б.** С любезного разрешения Robert L. Hamilton and the Arteriosclerosis Specialized Center of Research, University of California, San Francisco; **рис. 21-40, б.** Alan Attie, University of Wisconsin–Madison, Department of Biochemistry; **с. 491** (Браун и Голдштейн) Corbis/UPI/Bettmann; **доп. 21-3** (Эндо) С любезного разрешения Akira Endo, Ph.D.; (Альбертс) С любезного разрешения Alfred W. Alberts; (Варелос) С любезного разрешения P. Roy Vagelos.

ГЛАВА 22. С. 505. Gertrude Elion, цит. по S. B. McGrayne (2002) Damn the torpedoes. Full speed ahead. *Science* 296, 851–852; **доп. 22-1, рис. 1, 2.** По van Niftrik, L. A., Fuerst, J. A., Damsté, J. S. S., Kuenen, J. G., Jetten, M. S. M., & Strous, M. (2004) The anammoxosome: an intracytoplasmic compartment in anammox bacteria. *FEMS Microbiol. Lett.* 233, 10, Figs 4 and 3; с изм.; **доп. 22-1, рис. 3.** С любезного разрешения John Fuerst. Перепечатано с разрешения из Lindsay, M. R., Webb, R. I., Strous, M., Jetten, M. S., Butler, M. K., Forde, R. J., & Fuerst, J. A. (2001) Cell compartmentalisation in planctomycetes: novel types of structural organisation for the bacterial cell. *Arch. Microbiol.* 175, 421, Fig. 6A; **рис. 22-3.** PDB ID 1N2C, Schindelin, H., Kisker, C., Schlessman, J. L., Howard, J. B., & Rees, D. C. (1997) Structure of ADP X AlF₄⁻-stabilized nitrogenase complex and its implications for signal transduction. *Nature* 387, 370; **рис. 22-4, а.** С. P. Vance/Visuals Unlimited; (врезка) Ric Ergenbright/Corbis; **рис. 22-4, б.** Jeremy Burgess/Photo Researchers; **рис. 22-5.** PDB ID 2GLS, Yamashita, M. M., Almasy, R. J., Janson, C. A., Cascio, D., & Eisenberg, D. (1989) Refined atomic model of glutamine synthetase at 3.5 angstroms resolution. *J. Biol. Chem.* 264, 17,681; **доп. 22-3, рис. 1.** John Mansfield, University of Wisconsin–Madison, Department of Veterinary Science; **с. 545** (Бьюкенен) Massachusetts Institute of Technology Museum Collection; **рис. 22-37.** PDB ID 1M6V, Thoden, J. B., Huang, X., Raushel, F. M., & Holden, H. M. (2002) Carbamoyl-phosphate synthetase: creation of an escape

route for ammonia. *J. Biol. Chem.* 277, 39,722; Jim Thoden and Hazel Holden, University of Wisconsin–Madison, Department of Biochemistry and Enzyme Institute, provided preliminary data for the channel path; **рис. 22-40, а.** Thelander, L. & Reichard, P. (1979) Reduction of ribonucleotides. *Annu. Rev. Biochem.* 48, 133; **рис. 22-40, б.** PDB ID 1PFR, Logan, D. T., Su, X. D., Aberg, A., Regnstrom, K., Hajdu, J., Eklund, H., & Nordlund, P. (1996) Crystal structure of reduced protein r2 of ribonucleotide reductase: the structural basis for oxygen activation at a dinuclear iron site. *Structure* 4, 1053; **с. 557** (Элайон и Хитчингс) с любезного разрешения Kathy Bendo Hitchings.

ГЛАВА 23. С. 567. Charles Édouard Brown-Séquard and J. d'Arsonval (1891) Additions à une note sur l'injection des extraits liquides de divers organes, comme méthode thérapeutique (Additions to a note on the injection of aqueous extracts of various organs, as a therapeutic method). *Comptes Rendus de la Société de Biologie* (9)3, 267; **с. 569** (Гиймен) Corbis/UPI/Bettmann; (Шалли) AP/Wide World Photos; (Ялоу) с любезного разрешения Rosalyn S. Yalow, Veterans Affairs Medical Center, New York; **доп. 23-1.** (Бантинг, Маклеод, Бест, Коллип) Corbis/UPI/Bettmann; **рис. 23-3.** По Orth, D. N. (1975) General considerations for radioimmunoassay of peptide hormones. *Methods Enzymol.* 37, 22; **с изм.; рис. 23-16, а.** Fred Hossler/Visuals Unlimited; **рис. 23-19.** Перепечатано с разрешения из Blei, M. L., Conley, K. E., & Kushmerick, M. J. (1993) Separate measures of ATP utilization and recovery in human skeletal muscle. *J. Physiol.* 465, 210, Fig. 4; **рис. 23-21.** D. W. Fawcett/Photo Researchers; **рис. 23-23.** С любезного разрешения M. L. Thomas, H. C. Sing, G. Belenky, Walter Reed Army Institute of Research, U.S. Army Medical Research Materiel Command, Division of Neuropsychiatry; **рис. 23-29, б.** Координаты с любезного разрешения Frances M. Ashcroft, Oxford University, использованы с разрешения S. Haider and M. S. P. Sansom, чтобы заново построить модель, опубликованную в Antcliff, J. F., Haider, S., Proks, P., Sansom, M. S. P., Ashcroft, F. M. (2005) Functional analysis of a structural model of the ATP-binding site of the K_{ATP} channel Kir6.2 subunit. *EMBO J.* 24, 229–239; **рис. 23-34.** John Sholtis, The Rockefeller University, New York; **рис. 23-35.** По Ezzell, C. (1995) Fat times for obesity research: tons of new information, but how does it all fit together? *J. NIH Res.* 7, 39; **с изм.; рис. 23-36.** По Schwartz, M. W. & Morton, G. J. (2002) Obesity: keeping hunger at bay. *Nature* 418, 595, Fig. 1; **с изм.; рис. 23-37.** По Auwerx, J. & Staels, B. (1998) *Leptin*. *Lancet* 351, 737; **с изм.; рис. 23-40.** По <http://web.indstate.edu/theme/mwking/ampk.html> и Steinberg, G. R. & Kemp, B. E. (2007) Adiponectin: starving for attention. *Cell Metab.* 6, 4, Fig. 1; **с изм.; рис. 23-42.** По Evans, R. M., Barish, G. D., & Wang, Y.-X. (2004) PPARs and the complex journey to obesity. *Nat. Med.* 10, 355–361, Fig. 3; **с изм.; рис. 23-43.** По Cummings, D. E., Purnell, J. Q., Frayo, R. S., Schmidova, K., Wisse, B. E., & Weigle, D. S. (2001) A preprandial rise in plasma ghrelin levels suggests a role in

meal initiation in humans. *Diabetes* 50, 1714, Fig. 1; **с изм.; рис. 23-44.** По Nadler, S. T. & Attie, A. D. (2001) Please pass the chips: genomic insights into obesity and diabetes. *J. Nutr.* 131, 2080.

Том 3

ГЛАВА 24. С. 7. N. R. Cozzarelli (1993) The structure and function of DNA supercoiling and catenanes. *Harvey Lectures* 87, 35–55; **рис. 24-1.** Из Kleinschmidt, A. K., Land, D., Jackerts, D., & Zahn, R. K. (1962) Darstellung und Längenmessungen des gesamten Desoxyribonucleinsäure Inholder von T2-Bakteriophagen. *Biochim. Biophys. Acta* 61, 857–864; **с. 8** (Бидл) Archive Photos; (Татум) Corbis/UPI/Bettmann; **рис. 24-4.** Huntington Potter and David Dressler, Harvard Medical School, Department of Neurobiology; **рис. 24-5, а, б.** G. F. Bahr/Biological Photo Service; **рис. 24-6.** D. W. Fawcett/Photo Researchers; **рис. 24-11.** По Cozzarelli, N. R., Boles, T. C., & White, J. H. (1990) Primer on the topology and geometry of DNA supercoiling. In *DNA Topology and Its Biological Effects* (Cozzarelli, N. R. & Wang, J. C., eds), Cold Spring Harbor Laboratory Press, Cold Spring Harbor, NY, pp. 139–184; **с изм.; рис. 24-12.** По Saenger, W. (1984) *Principles of Nucleic Acid Structure*, Springer-Verlag, New York, p. 452; **с изм.; рис. 24-13.** Laurien Polder, из Kornberg, A. (1980) *DNA Replication*, W. H. Freeman & Company, New York, p. 29; **рис. 24-14, 24-15.** См источник для рис. 24-11; **рис. 24-20.** Keller, W. (1975) Characterization of purified DNA-relaxing enzyme from human tissue culture cells. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 72, 2553; **рис. 24-21, 24-22.** По Champoux, J. J. (2001) DNA topoisomerases: structure, function, and mechanism. *Annu. Rev. Biochem.* 70, 369, Figs 3, 11; **с изм.; рис. 24-23, а.** James H. White, T. Christian Boles, and N. R. Cozzarelli, University of California, Berkeley, Department of Molecular and Cell Biology; **рис. 24-26, б.** Ada L. Olins and Donald E. Olins, Oak Ridge National Laboratory; **рис. 24-27.** PDB ID 1AOI, Luger, K., Maeder, A. W., Richmond, R. K., Sargent, D. F., & Richmond, T. J. (1997) Crystal structure of the nucleosome core particle at 2.8 Å resolution. *Nature* 389, 251; **доп. 24-2, рис. 1.** По Sarma, K. & Reinberg, D. (2005) Histone variants meet their match. *Nat. Rev. Mol. Cell Biol.* 6, 140; **доп. 24-2, рис. 2, б.** Данные с любезного разрешения Steve Henikoff. Перепечатано с разрешения из Mito, Y., Henikoff, J. G., & Henikoff, S. (2005) Genomescale profiling of histone H3.3 replacement patterns. *Nat. Genet.* 37, 1092; **рис. 24-30, б.** Barbara Hamkalo, University of California, Irvine, Department of Molecular Biology and Biochemistry; **рис. 24-31.** D. W. Fawcett/Visuals Unlimited; **рис. 24-34, а, б.** По Hirano, T. (2002) The ABCs of SMC proteins: two-armed ATPases for chromosome condensation, cohesion, and repair. *Genes Dev.* 16, 399; **с изм.; рис. 24-34, в.** Thomas E. Melby, Charles N. Ciampaglio, Gina Briscoe, and Harold P. Erickson; **рис. 24-34, г, д.** По Nasmyth, K. & Haering, C. H. (2005) The structure and function of SMC and kleisin complexes. *Annu. Rev. Biochem.* 74, 611, 614, Figs 4, 5; **с**

изм.; **рис. 24-35.** По Bazett-Jones, D. P., Kimura, K., & Hirano, T. (2002) Efficient supercoiling of DNA by a single condensin complex as revealed by electron spectroscopic imaging. *Mol. Cell* 9, 1183, Fig. 5; с изм.; **с. 40** (задача 9) Roger Kornberg, MRC Laboratory of Molecular Biology; (задача 14) Bowater, R. P. (2005) Supercoiled DNA: structure. In *Encyclopedia of Life Sciences*, doi: 10.1038/npq.els.0006002, John Wiley & Sons, Inc./Wiley InterScience, www.els.net.

ГЛАВА 25. С. 43. Arthur Kornberg (1975) For the love of enzymes. In *In Honour of Severo Ochoa* (A. Kornberg et al., eds), Pergamon Press, New York, 1976, pp. 243–251; **рис. 25-3, б.** С любезного разрешения Dr. R. G. Wake, University of Sydney, Australia. Перепечатано с разрешения из Gyurasits, E. B. & Wake, R. G. (1973) Bidirectional chromosome replication in *Bacillus subtilis*. *J. Mol. Biol.* 73, Plate I(f); с. 49 (Корнберг) AP/Wide World Photos; **рис. 25-8.** PDB ID 3BDP, Kiefer, J. R., Mao, C., Braman, J. C., & Beese, L. S. (1998) Visualizing DNA replication in a catalytically active *Bacillus* DNA polymerase crystal. *Nature* 391, 304; **рис. 25-10, б.** PDB ID 2POL, Kong, X.-P., Onrust, R., O'Donnell, M., & Kuriyan, J. (1992) Three-dimensional structure of the β subunit of *Escherichia coli* DNA polymerase III holoenzyme: a sliding DNA clamp. *Cell* 69, 425; **рис. 25-12.** По рисункам в Erzberger, J. P., Mott, M. L., & Berger, J. M. (2006) Structural basis for ATP-dependent DnaA assembly and replication-origin remodeling. *Nat. Struct. Mol. Biol.* 13, 676–683; с изм.; **рис. 25-14.** По анимации, любезно предоставленной Mike O'Donnell, The Rockefeller University; **рис. 25-18.** Wake, R. G. & King, G. F. (1997) A tale of two terminators: crystal structures sharpen the debate on DNA replication fork arrest mechanisms. *Structure* 5, 1; **рис. 25-18, б.** По Lemon, K. P. & Grossman, A. D. (2001) The extrusion-capture model for chromosome partitioning in bacteria. *Genes Dev.* 15, 2031; с изм.; **рис. 25-19.** Bruce N. Ames, University of California, Berkeley, Department of Biochemistry and Molecular Biology; **рис. 25-20.** По иллюстрации в Sivaprasad, U., Dutta, A., & Bell, S. P. (2006) Assembly of pre-replication complexes. In *DNA Replication and Human Disease* (DePamphilis, M. L., ed.), Cold Spring Harbor Laboratory Press, Cold Spring Harbor, NY, pp. 141–152; с изм.; **рис. 25-21.** По иллюстрации, предоставленной Paul Modrich; с изм.; **рис. 25-22.** Grilley, M., Griffith, J., & Modrich, P. (1993) Bidirectional excision in methyl-directed mismatch repair. *J. Biol. Chem.* 268, 11830; **рис. 25-23.** Watson, J. D., Hopkins, N. H., Roberts, J. W., Steitz, J. A., & Weiner, A. M. (1987) *Molecular Biology of the Gene*, 4th edn, The Benjamin/Cummings Publishing Company, Menlo Park, CA, p. 350; **рис. 25-24.** По иллюстрации, предоставленной Aziz Sancar; **с. 81** (МакКлинток) AP/Wide World Photos; **рис. 25-32, б.** Bernard John, The Australian National University; **рис. 25-33, б.** Huntington Potter and David Dressler, Harvard Medical School, Department of Neurobiology; **рис. 25-36, а.** John Heuser, Washington University Medical School, Department of Biochemistry; **рис. 25-36, б.** PDB ID 2REB, Story, R. M., Weber, I. T., &

Steitz, T. A. (1992) The structure of the *E. coli* RecA protein monomer and polymer. *Nature* 355, 318; **рис. 25-38.** Roca, A. I. & Cox, M. M. (1990) The RecA protein: structure and function. *Crit. Rev. Biochem. Mol. Biol.* 25, 415; **рис. 25-40, а.** По Guo, F., Gopaul, D. N., & Van Duyne, G. D. (1997) Structure of Cre recombinase complexed with DNA in a site-specific recombination synapse. *Nature* 389, 40; с изм.; **рис. 25-40, б.** PDB ID 3CRX, Gopaul, D. N., Guo, F., & Van Duyne, G. D. (1998) Structure of the Holliday junction intermediate in Cre-LoxP site-specific recombination. *EMBO J.* 17, 4175.

ГЛАВА 26. С. 105. Francis H. C. Crick (1958) The biological replication of macromolecules. *Symposium of the Society of Experimental Biology* 12, 146; **рис. 26-4.** PDB ID 1IW7, Vassilyev, D. G., Sekine, S., Laptchenko, O., Lee, J., Vassilyeva, M. N., Borukhov, S., & Yokoyama, S. (2002) Crystal structure of a bacterial RNA polymerase holoenzyme at 2.6 Å resolution. *Nature* 417, 712; **рис. 26-6, б.** По координатам, предоставленным Seth Darst, The Rockefeller University; **рис. 26-8.** Landick, R. (1997) RNA polymerase slides home: pause and termination site recognition. *Cell* 88, 741; **доп. 26-1, рис. 2.** Carol Gross, University of California, San Francisco, Department of Stomatology; **рис. 26-10, б.** PDB ID 1TGH, Juo, Z. S., Chiu, T. K., Leiberman, P. M., Baikalov, I., Berk, A. J., & Dickerson, R. E. (1996) How proteins recognize the TATA-box. *J. Mol. Biol.* 261, 239; **рис. 26-10, в.** По Klug, A. (2001) A marvelous machine for making messages. *Science* 292, 1844–1846; **рис. 26-11, б.** PDB ID 1DSC, Lian, C., Robinson, H., & Wang, A. H.-J. (1996) Structure of actinomycin D bound with (GAAGCTTC)₂ and (GATGCTTC)₂ and its binding to the (CAG)_n(CTG)_n triplet sequence by NMR analysis. *J. Am. Chem. Soc.* 118, 8791; **рис. 26-13, а.** Pierre Chambon, Laboratoire de Génétique Moléculaire des Eucaryotes, Faculté de Médecine (CNRS); **рис. 26-13, б, в.** Chambon, P. (1981) Split genes. *Sci. Am.* 244 (May), 60; с. 125 (Чек) Corbis/UPI/Bettmann; Figure 26–16 Cech, T. R. (1986) RNA as an enzyme. *Sci. Am.* 255 (November), 64; **рис. 26-17, а.** Kramer, A. (1996) The structure and function of proteins involved in mammalian pre-mRNA splicing. *Annu. Rev. Biochem.* 65, 367; **рис. 26-22.** По Blencowe, B. J. (2006) Alternative splicing: new insights from global analyses. *Cell* 126, 38, Fig. 2; с изм.; **рис. 26-26.** По Kiss, T. (2002) Small nucleolar RNAs: an abundant group of noncoding RNAs with diverse cellular functions. *Cell* 109, 146; **рис. 26-28.** По Wienholds, E. & Plasterk, R. H. A. (2005) MicroRNA function in animal development. *FEBS Lett.* 579, 5914; с изм.; **рис. 26-29, б.** PDB ID 1MME, см. Источник для рис. 8-25, б; **рис. 26-30.** Cech, T. R., Damberger, S. H., & Gutell, R. R. (1994) Representation of the secondary and tertiary structure of group I introns. *Struct. Biol.* 1, 273; **рис. 26-31.** Cech, T. R. (1986) RNA as an enzyme. *Sci. Am.* 255 (November), 64; **с. 143** (Грюнберг-Маного) С любезного разрешения Marianne Grunberg-Manago; (Очоа) AP/Wide World Photos; **с. 145** (Темин) Corbis/UPI/Bettmann; (Балтимор) AP/Wide World Photos;

рис. 26-36. Haseltine, W. A. & Wong-Staal, F. (1988) The molecular biology of the AIDS virus. *Sci. Am.* 259 (October), 52; **рис. 26-37.** Kingsman, A. J. & Kingsman, S. M. (1988) Ty: a retroelement moving forward. *Cell* 53, 333; **рис. 26-39, а.** Boeke, J. D. (1990) Reverse transcriptase, the end of the chromosome, and the end of life. *Cell* 61, 193; **рис. 26-39, в.** Jack Griffith, University of North Carolina at Chapel Hill, Comprehensive Cancer Center; **с. 152** (Вёзе, Крик, Орел) AP/Wide World Photos; **доп. 26-3, рис. 3** PDB ID 1RAW, Dieckmann, T., Suzuki, E., Nakamura, G. K., & Feigon, J. (1996) Solution structure of an ATP-binding RNA aptamer reveals a novel fold. *RNA* 2, 628.

ГЛАВА 27. с. 165. Gerald Joyce, цит. по М. М. Waldrop (1992) Finding RNA makes proteins gives "RNA World" a big boost. *Science* 256, 1396–1397; с. 166 (Замечник) News Office, Massachusetts General Hospital; **рис. 27-1.** D. W. Fawcett/Visuals Unlimited; с. 167 (Ниренберг) AP/Wide World Photos; с. 170 (Корана) С любезного разрешения Archives, University of Wisconsin–Madison; **с. 180** (Номура) с любезного разрешения Masayasu Nomura; **рис. 27-13, а, б, в.** PDB ID 2OW8, 1VSA, 1GIX, Korostelev, A., Trakhanov, S., Laurberg, M., & Noller, H. F. (2006) Crystal structure of a 70S ribosome-tRNA complex reveals functional interactions and rearrangements. *Cell* 126, 1065; **рис. 27-13, г.** PDB ID 1Q7Y, Hansen, J. L., Schmeing, T. M., Moore, P. B., & Steitz, T. A. (2002) Structural insights into peptide bond formation. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 99, 11,670; **доп. 27-2, рис. 1.** PDB ID 1NKW, Harms, J. M., Schlutzen, F., Zarivach, R., Bashan, A., Gat, S., Agmon, I., Bartels, H., Franceschi, F., & Yonath, A. (2001) High resolution structure of the large ribosomal subunit from a mesophilic eubacterium. *Cell* 107, 679; **с. 185** (Холли) Corbis/UPI/Bettmann; **рис. 27-18, б.** PDB ID 4TRA, Westhof, E., Dumas, P., & Moras, D. (1988) Restrained refinement of two crystalline forms of yeast aspartic acid and phenylalanine transfer RNA crystals. *Acta Crystallogr. A* 44, 112; **рис. 27-22, а.** PDB ID 1QRT, Arnez, J. G. & Steitz, T. A. (1996) Crystal structures of three misacylating mutants of Escherichia coli glutamyl-tRNA synthetase complexed with tRNA(Gln) and ATP. *Biochemistry* 35, 14,725; **рис. 27-22, б.** PDB ID 1ASZ, Cavarelli, J., Eriani, G., Rees, B., Ruff, M., Boeglin, M., Mitschler, A., Martin, F., Gangloff, J., Thierry, J. C., & Moras, D. (1994) The active site of yeast aspartyl-tRNA synthetase: structural and functional aspects of the aminoacylation reaction. *EMBO J.* 13, 327; **доп. 27-3, рис. 2.** По Xie, J. M. & Schultz, P. G. (2006) Innovation: a chemical toolkit for proteins – an expanded genetic code. *Nat. Rev. Mol. Cell Biol.* 7, 778; **рис. 27-30, б (слева).** PDB ID 1B23, Nissen, P., Thirup, S., Kjeldgaard, M., & Nyborg, J. (1999) The crystal structure of Cys-tRNA^{Cys}-EF-Tu-GDPNP reveals general and specific features in the ternary complex and in tRNA. *Struct. Fold. Des.* 7, 143; **рис. 27-30, б (справа).** PDB ID 1DAR, al-Karadaghi, S., Aevansson, A., Garber, M., Zheltonosova, J., & Liljas, A. (1996) The structure of elongation factor G in complex with GDP: conformational flexibility and nucleotide exchange. *Structure* 4, 555; **рис. 27-32, б.** Steven

L. McKnight and Oscar L. Miller, University of Virginia, Department of Biology; **с. 210** (Блобел) с любезного разрешения Günter Blobel, The Rockefeller University; **с. 211** (Паладе) AP/Wide World Photos; **рис. 27-42, б.** D. W. Fawcett/Photo Researchers; **рис. 27-45.** По Mayor, S. & Pagano, R. E. (2007) Pathways of clathrin-independent endocytosis. *Nat. Rev. Mol. Cell Biol.* 8, 604; с изм.; **рис. 27-46, в.** John Heuser, Washington University Medical School, Department of Biochemistry; **рис. 27-48, а.** PDB ID 1IRU, Unno, M., Mizushima, T., Morimoto, Y., Tomisugi, Y., Tanaka, K., Yasuoka, N., & Tsukihara, T. (2002) The structure of the mammalian 20S proteasome at 2.75 Å resolution. *Structure* 10, 609.

ГЛАВА 28. С. François Jacob and Jacques Monod (1961). Genetic regulatory mechanisms in the synthesis of proteins. *Journal of Molecular Biology* 3, 318–356; p. 1119 (Жакоб, Моно) Corbis/Bettmann; **рис. 28-7, б.** С любезного разрешения M. Thomas Record and Oleg Tsodikov, University of Wisconsin–Madison, Department of Biochemistry; **рис. 28-7, в, г.** PDB ID 1LBG, 1LBH, Lewis, M., Chang, G., Horton, N. C., Kercher, M. A., Pace, H. C., Schumacher, M. A., Brennan, R. G., & Lu, P. (1996) Crystal structure of the lactose operon repressor and its complexes with DNA and inducer. *Science* 271, 1247. Боковые цепи добавлены только для вводных Cα-only PDB с помощью программ MIDAS-PLUS и Sybyl; **рис. 28-11, а, в, г.** PDB ID 1LCC, Chuprina, V. P., Rullmann, J. A. C., Lamerichs, R. M. J. N., Van Boom, J. H., Boelens, R., & Kaptein, R. (1993) Structure of the complex of Lac repressor headpiece and an 11 base-pair half-operator determined by nuclear magnetic resonance spectroscopy and restrained molecular dynamics. *J. Mol. Biol.* 234, 446; **рис. 28-11, б.** PDB ID 1LBG, см. источник для рис. 28-7, в, г; **рис. 28-12.** PDB ID 1A1L, Elrod-Erickson, M., Benson, T. E., & Pabo, C. O. (1998) High-resolution structures of variant Zif268-DNA complexes: implications for understanding zinc finger–DNA recognition. *Structure* 6, 451; **рис. 28-13.** PDB ID 1B8I, Passner, J. M., Ryoo, H.-D., Shen, L., Mann, R. S., & Aggarwal, A. K. (1999) Structure of a DNA-bound ultrathorax-extradenticle homeodomain complex. *Nature* 397, 714; **рис. 28-14, а.** McKnight, S. L. (1991) Molecular zippers in gene regulation. *Sci. Am.* 264 (April), 54–64; **рис. 28-14, б.** PDB ID 1YSA, Ellenberger, T. E., Brandl, C. J., Struhl, K., & Harrison, S. C. (1992) The GCN4 basic region leucine zipper binds DNA as a dimer of uninterrupted α helices: crystal structure of the protein-DNA complex. *Cell* 71, 1223; **рис. 28-15.** PDB ID 1HLO, Brownlie, P., Ceska, T. A., Lamers, M., Romier, C., Theo, H., & Suck, D. (1997) The crystal structure of an intact human max-DNA complex: new insights into mechanisms of transcriptional control. *Structure* 5, 509; **рис. 28-16.** PDB ID 1RUN, Parkinson, G., Gunasekera, A., Vojtechovsky, J., Zhang, X., Kunkel, T. A., Berman, H., & Ebright, R. H. (1996) Aromatic hydrogen bond in sequence-specific protein-DNA recognition. *Nat. Struct. Biol.* 3, 837; **рис. 28-20.** PDB ID 1TRO, Otwinowski, Z., Schevitz, R. W., Zhang, R.-G., Lawson, C. L., Joachimiak, A. J., Marmorstein, R.,

Luisi, B. F., & Sigler, P. B. (1988) Crystal structure of Trp repressor operator complex at atomic resolution. *Nature* 335, 321; **рис. 28-21, а**. Watson, J. D., Hopkins, N. H., Roberts, J. W., Steitz, J. A., & Weiner, A. M. (1987) *Molecular Biology of the Gene*, 4th edn, The Benjamin/Cummings Publishing Company, Menlo Park, CA, p. 487; **рис. 28-23**. Nomura, M., Gourse, R., & Baughman, G. (1984) Regulation of the synthesis of ribosomes and ribosomal components. *Annu. Rev. Biochem.* 53, 75; **рис. 28-25**. По Szymanski, M. & Barciszewski, J. (2002) Beyond the proteome: non-coding regulatory RNAs. *Genome Biol.* 3, 6; с изм.; **рис. 28-26**. По Winkler, W. C. & Breaker, R. R. (2005) Regulation of bacterial gene expression by riboswitches. *Annu. Rev. Microbiol.* 59, 493; **рис. 28-27**. John D. Cunningham/Visuals Unlimited; **рис. 28-31**. Schwabe, J. W. R. & Rhodes, D. (1991) Beyond zinc fingers: steroid hormone receptors have a novel structural motif for DNA recognition. *Trends*

Biochem. Sci. 16, 291; **рис. 28-37**. F. R. Turner, University of Indiana, Bloomington, Department of Biology; p. 1149 (Nüsslein-Volhard) AP/Wide World Photos/Mark Lennihan; **рис. 28-39**. Wolfgang Driever and Christiane Nüsslein-Volhard, Max-Planck-Institut; **рис. 28-40**. По рисунку, предоставленному Marv Wickens, University of Wisconsin–Madison, Department of Biochemistry; с изм.; **рис. 28-41, б**. С любезного разрешения Phillip Ingham, Imperial Cancer Research Fund, Oxford University; **рис. 28-43, а, б**. F. R. Turner, University of Indiana, Bloomington, Department of Biology; **рис. 28-43, в, г**. E. B. Lewis, California Institute of Technology, Division of Biology; **доп. 28-1, рис. 1**. По Abzhanov, A., Kuo, W. P., Hartmann, C., Grant, B. R., Grant, P. R., & Tabin, C. J. (2006) The calmodulin pathway and evolution of elongated beak morphology in Darwin's finches. *Nature* 442, 565, Fig. 4; с изм.

Предметно-именной указатель

А

АВС-нуклеазы **3**: 74, 78
АВС-транспортеры **1**: 565; **2**: 489
ACAT (ацил-СоА-холестеринацил-трансфераза) **2**: 485, 492
ADAR **3**: 176–178
AdoMet, см. Аденозинметионин
ADP (аденозиндифосфат)
– в синтезе жирных кислот **2**: 451, 452
– в фотосинтезе **2**: 357, 358
– перенос фосфатной группы **2**: 73–76
– синтез **1**: 45, 46
ADP-глюкоза **2**: 426–428
ADP-глюкозопирофосфорилаза **2**: 430
ADP-рибозилирование ферментов **1**: 324, 602
Aequorea victoria, флуоресцентные белки **1**: 451, 612
Agrobacterium tumefaciens, в клонировании **1**: 469–471
AlkB белок, в репарации ДНК **3**: 68, 75, 77
AMP (аденозинмонофосфат) **1**: 44, 394; **2**: 33, 546, 547, 550
– варианты формы **1**: 427
– концентрация **1**: 608, 614, 615
– модификация аллостерических ферментов **1**: 329, 600, 604
АМРК (АМР-активируемая протеинкиназа) **2**: 131, 243
– влияние адипонектина **2**: 612
– стимуляция лептином **2**: 609, 610
АМР-активируемая протеинкиназа, см. АМРК
АР-эндонуклеазы **3**: 68, 72, 73, 79
Араф-1 фактор апоптоза **2**: 350
APC, мутации **1**: 671
АроВ-100 **2**: 487–490
– редактирование РНК **3**: 177
АроВ-48, редактирование РНК **3**: 177
АРОВЕС **3**: 176, 177
ароЕ
– в болезни Альцгеймера **2**: 487
– связывание с рецепторами **2**: 485, 487
Ар-сайт в репарации ДНК **3**: 71
Arabidopsis thaliana
– аквапорины **1**: 572
– сигнальные пути **1**: 648, 649
– синтез целлюлозы **2**: 432
Aspergillus niger, синтез лимонной кислоты **2**: 204
АТР (аденозинтрифосфат) **1**: 45, 46, 424, 425

– в активном транспорте **2**: 40
– в биолюминесценции у светляков **2**: 39
– в гликолизе **2**: 75–80
– в глюконеогенезе **2**: 103, 104
– в инициации репликации **3**: 56, 57
– в протеолизе **3**: 220, 221
– в регуляции гликолиза и глюконеогенеза **2**: 143, 144
– в регуляции метаболизма **2**: 129, 130
– в сердечной мышце **2**: 589
– в сокращении мышц **2**: 40, 589
– в фиксации азота **2**: 507, 510
– в фотосинтезе **2**: 404, 405, 415, 416
– в цикле Кальвина **2**: 415, 416
– выход при окислении глюкозы **2**: 201, 202
– гидролиз **1**: 425; **2**: 18, 31, 35, 37
– и функция моторных белков **1**: 256–262
– биохимическое/химическое уравнение **2**: 27
– константа равновесия **2**: 18
– изменение свободной энергии **2**: 16, 29, 31
– ингибирование пируваткиназы **2**: 147
– комплексы Mg^{2+} **1**: 308; **2**: 27, 30
– концентрация **2**: 30
– перенос фосфорильных групп **2**: 28–43
– при гипоксии **2**: 344
– регуляция в окислительном фосфорилировании **2**: 343–346
– синтез **2**: 327–342
– в галофильных бактериях **2**: 387, 388
– при окислительном фосфорилировании **2**: 343–346
– при фотофосфорилировании **2**: 381–384
– регуляция **2**: 347
– синтез сАМР **1**: 427
АТРазы
– ААА+ **3**: 56
– F-типа **1**: 563; **2**: 331; см. также АТР-синтаза
– Na^+ / K^+ в поляризации мембраны **1**: 563, 633, 634, 635
– Р-типа **1**: 540, 541, 560, 561
– V-типа **1**: 564
– в мембранном транспорте **1**: 564, 565
– в нейронах **2**: 590
– в сетчатке **1**: 651

АТР-синтаза **2**: 327, 334, 351, 385
– в хлоропластах **2**: 384
– конформация субъединиц **2**: 333
– модель действия **2**: 333–338, 384
– функциональные домены **2**: 331
АТР-синтасома **2**: 340
АТР-управляемые K^+ -каналы **2**: 596
Azotobacter vinelandii, фиксация азота **2**: 512
AZT (азидотимидин) **3**: 147
А-ДНК **1**: 405
А-сайт **3**: 197

В

ВАС (искусственная бактериальная хромосома) **1**: 439, 442
BRCA1/2, и рак молочной железы **3**: 80
В-ДНК **1**: 405
В-клетки (В-лимфоциты) **1**: 170
– рекомбинация **3**: 96, 97
bicoid **3**: 273–275
Bmp4 **3**: 280

С

C_2 -путь **2**: 422
 C_3 -растения **2**: 423
 C_4 -путь **2**: 422–425
 C_4 -растения **2**: 423
 Ca^{2+}
– концентрация в цитозоле/внеклеточных жидкостях **1**: 634, 635
– осцилляции **1**: 615, 618
 Ca^{2+} /кальмодулин-зависимые протеинкиназы **1**: 614–616
 Ca^{2+} -каналы **1**: 573, 580
– в метаболизме глюкозы **2**: 596
– в передаче сигнала **1**: 611, 616
– дефекты **1**: 579, 581
 Ca^{2+} -насос **1**: 560, 611, 616
– SERCA **1**: 560, 561
сАМР (циклический аденозинмонофосфат) **1**: 427
– гормональная регуляция **1**: 599
– измерение методом FRET **1**: 614, 615
– как вторичный мессенджер **1**: 427, 607
– расщепление **1**: 605, 609
– синтез под действием аденилатциклазы **1**: 598, 599
– структура **1**: 427
сАМР-зависимая протеинкиназа А (РКА) **1**: 599, 604
сАМР-чувствительный элемент (CRE) **3**: 268

cAMP-рецепторный белок (CRP) 3: 116
 САМ-растения 2: 426
 CASP, предсказание структуры белка 1: 212
caudal 3: 275, 276
 CDK9 3: 120
 CDP (цитидиндифосфат) 2: 471
 CDP-диацилглицерин 2: 471–473
Celera Corporation 1: 458
 CFP (голубой флуоресцентный белок) 1: 612–515
 cGMP (циклический гуанозинмонофосфат)
 – роль в зрительной функции 1: 651–654
 – структура 1: 627
 cGMP-зависимая протеинкиназа (протеинкиназа G) 1: 627
 cGMP-фосфодиэстераза (PDE) 1: 628, 653
 ChREBP-транскрипционный фактор 2: 150, 151
Clostridium
 – *acetobutyricum* 2: 96
 – *botulinum* 1: 549
 – *perfringens* 1: 222
 CMP (цитидинмонофосфат) 1: 394, 424; 2: 548
 CO₂, см. Диоксид углерода
 CoA (кофермент А) 1: 426; 2: 183
 CODIS база данных 1: 455, 457
 COX (циклооксигеназа) 2: 461, 462
 – ингибиторы 2: 461, 462
 COX4 2: 345, 346
Crassulaceae, фотосинтез 2: 426
 CREB 1: 608; 3: 268
 CTF1 3: 265, 266
 С-белок 1: 260
 С-концевой остаток 1: 128
 – посттрансляционные модификации 3: 206

D

Dam-метилаза 3: 58
 – в репарации 3: 68
 dAMP (дезоксиаденозинмонофосфат) 1: 394
 dCMP (дезоксцитидинмонофосфат) 1: 394
 DDI 3: 147
 dGMP (дезоксигуанозинмонофосфат) 1: 393, 394
 Dicer 3: 138, 270
 DnaA-белок, в инициации репликации 3: 56–60
 DnaB-хеликаза 3: 57–60

DnaC-белок, в инициации репликации 3: 57–60
 DnaG-белок 3: 58
 DnaK/DnaJ, в фолдинге белка 1: 212, 213
 Drosha 3: 138, 270
Drosophila melanogaster
 – жизненный цикл 3: 272
 – регуляция генов 3: 272–278
 dTMP (дезокситимидинмонофосфат) 1: 393, 394
 D-плечо, в тРНК 3: 185

E

E. coli, см. *Escherichia coli*
 E1, E2, E3 ферменты в расщеплении белков 3: 220, 221
 eIF4-связывающие белки 3: 198, 199
 ELISA (ИФА) 1: 255, 256; 2: 570
env 3: 145, 146, 148, 176
erbB2 онкоген 1: 670
 ERK киназа 1: 327, 619, 621, 622, 625
Escherichia coli 1: 20–24
 – F₁F₀-комплекс 2: 331, 335–338
 – *lac* оперон 3: 235–245
 – ДНК 1: 51
 – карта хромосомы 3: 44
 – клонирование 1: 434–480
 – липополисахариды 1: 370
 – метилирование ДНК 1: 419
 – молекулярный состав 1: 33
 – переносчик лактозы 1: 567, 568
 – плазмидные векторы 1: 439, 440
 – репликация 3: 50–65
 – рибосомы 3: 180, 184
 – РНКазы Р 1: 410; 3: 136, 141, 142
 – секвенирование генома 1: 61
 – сигнальные пути 1: 644, 645
 – синтез фосфолипидов 2: 472
 – транскрипция 3: 106–115
 – цикл лимонной кислоты и глиоксилатный цикл 2: 212, 214
 – шапероны 1: 213, 214
 – экспрессирующие векторы 1: 444, 445
 EST (метка экспрессируемой последовательности) 1: 451
 Е-сайт, на рибосоме 3: 197

F

F₁F₀-комплекс *E. coli* 2: 331, 335–338
 F₁-компонент АТФ-синтазы 2: 331, 332, 334–338
 Fab-фрагмент иммуноглобулина 1: 251, 254
 FAD (флавинадениндинуклеотид) 1: 426; 2: 54, 308

FADD-белок 1: 672, 673
 Fas-рецептор, в апоптозе 1: 672, 673
 Fc-фрагмент иммуноглобулина 1: 251
 Fe-S-центр 2: 311, 368; см. также Железосерные кластеры
 fMet-тРНК, в синтезе белка 3: 195–198
 FMN (флавиномононуклеотид) 2: 54, 308
 FOXO1-фактор 2: 151, 152
 F₀-компонент АТФ-синтазы 2: 331, 335–338
 FRAP (метод обесцвечивания флуоресценции) 1: 541, 542
 FRET (флуоресцентный резонансный перенос энергии) 1: 609, 613–615
 F-актин 1: 258, 260, 261

G

gag 3: 144, 145
 – сдвиг рамки считывания 3: 175–177
gag-pol белок, и сдвиг рамки считывания 3: 175–177
 GAL-гены, регуляция 3: 264, 265
 Gal4p-белок 1: 467
 – кислый активирующий домен 3: 265
 GAP-белки (активаторы GTPаз) 1: 601, 602, 658
gap-гены 3: 273, 276
 GATC-последовательность
 – в репарации 3: 68–70
 – в репликации 3: 58
 GDP (гуанозиндифосфат)
 – в β-адренергическом пути 1: 599–605
 – при зрительном процессе 1: 652, 653
 – при обонянии 1: 656
 GEF (факторы обмена гуаниновых нуклеотидов) 1: 601
Gemmata obscuriglobus 2: 509
 GLUT1-переносчик 1: 553–555
 GLUT2-переносчик 1: 556, 569
 GLUT4-переносчик 1: 556
 GMP (гуанозинмонофосфат) 1: 394, 424
 GPI (гликозилфосфатидилинозит) 1: 530, 536, 537, 545
 GPR14 1: 478
 Grb2 1: 619, 625, 626, 629
 GRK-киназы 1: 606, 607
 GroEL/GroES 1: 19, 159
 – в фолдинге 1: 213, 214
 GSH, см. Глутатион

GTP (гуанозинтрифосфат) **1**: 68, 424, 598, 599
 – в β -адренергическом пути **1**: 597–605
 – и восприятие запаха и вкуса **1**: 656, 657
 – и зрительный процесс **1**: 652–654
 – синтез cGMP **1**: 627
 GTPазу активирующие белки (GAP) **1**: 601, 602
 GTPазы **1**: 599, 601, 602, 605, 658
 G-актин **1**: 258
 G-белки **1**: 600–605, 658
 – G_i **1**: 598, 608
 – G_{off} **1**: 656
 – G_q **1**: 611
 – G_{12} **1**: 598, 599, 608
 – Ras-типа **1**: 600, 619
 – гаструцин **1**: 656
 G-тетраплекс **1**: 407

H
Halobacterium salinarum **2**: 387, 388
 – бактериородопсин **1**: 532, 533, 544
 HCR репрессор **3**: 269
Helicobacter pylori, лектины **1**: 374, 375
 HIF-1 (индуцируемый гипоксией транскрипционный фактор-1) **2**: 81, 211, 345
 HIRA, в ремоделировании хроматина **3**: 259
his-оперон **3**: 247
 HMG-CoA **2**: 252
 – в синтезе холестерина **2**: 480, 481
 HMG-CoA-редуктаза
 – в синтезе холестерина **2**: 480, 481, 491, 492
 – ингибиторы **2**: 494, 495
 HMG-CoA-синтаза, в синтезе холестерина **2**: 480, 481
 HOX-гены **3**: 276, 277, 279
 HRE (элементы гормонального ответа) **1**: 643; **3**: 267, 268
 Hsp70, в фолдинге **1**: 212, 213
 HU, в репликации **3**: 56–58
hunchback **3**: 276

I
 IgA **1**: 252
 IgD **1**: 252
 IgE **1**: 252, 253
 IgG **1**: 251, 252, 254
 – рекомбинация генов **3**: 96, 97
 IgM **1**: 252
 I κ B (инициаторная последовательность) **3**: 117, 119, 261, 264

IP₃ (инозит-1,4,5-трифосфат) **1**: 507, 610, 611
 ISWI семейство, в ремоделировании хроматина **3**: 259

J
 JAK (Янус-киназа) **1**: 624; **2**: 608
 JAK-STAT-путь **1**: 624, 625; **2**: 608
 J-сегмент легкой цепи **3**: 96, 97

L
 L-19 IVS-рибозим **3**: 140, 141
lac-оперон **3**: 235–245
lac-промотор **3**: 235–245
 Lac-репрессор **3**: 235–245
Lactobacillus bulgaricus, в ферментации **2**: 96
leu-оперон **3**: 247
 LexA-репрессор, в SOS-реакциях **3**: 249, 250
 LINE (длинные рассеянные повторы) **3**: 14
 Lon-протеаза **3**: 220
 LRP-рецептор **2**: 491

M
 MALDI-масс-спектрометрия **1**: 149
 MAPK-киназы **1**: 622, 632
 – каскад **1**: 622
 MCM-белки **3**: 64, 65
 MDR1-переносчик **1**: 564
 MEK-протеинкиназа **1**: 619, 622
 MFP-белок **2**: 248
 MFS-факторы, облегчающие транспорт **1**: 568
MjTyrRS **3**: 192–194
MjTPHK^{Tyr} **3**: 192–194
 MODY (сахарный диабет взрослого типа у молодых) **2**: 152, 153, 355
 MutH в репарации ДНК **3**: 68–71
 MutL в репарации ДНК **3**: 68–71
 MutS в репарации ДНК **3**: 68–71
 M-белок **1**: 260

N
 Na⁺/K⁺-АТФаза **1**: 560, 562, 563; **2**: 40
 – в нейронах **2**: 590
 – в поляризации мембраны **1**: 633, 634
 – в сетчатке **1**: 651
 Na⁺-глюкозный симпорт **1**: 569, 570
 NAD⁺ (никотинамидадениндинуклеотид) **1**: 426; **2**: 50, 454
 – в цикле Кальвина **2**: 415
 NADH
 – в гликолизе **2**: 80
 – дегидрогеназные реакции **2**: 51, 52

– окисление в митохондриях растений **2**: 326
 – поглощение света **2**: 50
 – шаттл-системы **2**: 340–342
 NADH-дегидрогеназа **2**: 308, 313, 314
 NADH-убихинон-оксидоредуктаза (комплекс I; NADH-дегидрогеназа) **2**: 314
 NADP⁺ **2**: 50
 – дегидрогеназные реакции **2**: 51, 52
 – недостаточность витаминной формы **2**: 53, 54
 NADPH **2**: 307, 308, 454
 – в защите клеток от активных форм кислорода **2**: 107, 108, 324
 – в пентозофосфатном пути **2**: 107–111
 – в распределении глюкозо-6-фосфата **2**: 112
 – в реакциях анаболизма **2**: 447
 – в синтезе глицеральдегид-3-фосфата **2**: 410, 411
 – в синтезе жирных кислот **2**: 447–455
 – в фотосинтезе **2**: 358, 359, 415, 416
 – в цикле Кальвина **2**: 415, 416, 418
 – дегидрогеназные реакции **2**: 51, 52
 – синтез **2**: 454
nanos **3**: 276
 Neu5Ac (сиаловая кислота) **1**: 350, 372, 373, 376, 502
 NLS (сигнал ядерной локализации) **3**: 216, 217
 NO-синтаза **1**: 628; **2**: 576
 NS-домен **1**: 364–366
 NuA4, в ремоделировании хроматина **3**: 259
 NURF, в моделировании хроматина **3**: 259, 260

O
 OmpLA, структура **1**: 536
 OmpX, структура **1**: 536
 ORC-комплекс **3**: 64
 oriC (точка начала репликации) **3**: 44, 56–58

P
 p53 **1**: 665
 – мутации **1**: 670
 P/2e⁻ коэффициент **2**: 338
 P/O отношение **2**: 338
Paramecium **1**: 526
 PCNA **3**: 65
 PDK1 **1**: 622
 pH **1**: 92
 – буферов **1**: 97
 – в биологических системах **1**: 96

– в связывании кислорода гемоглобином **1**: 244
 – оптимум для ферментов **1**: 102, 303
phe-оперон **3**: 247
pI (изоэлектрическая точка) **1**: 125, 126
 – аминокислот **1**: 116
 – определение **1**: 136
pK_a **1**: 94–98
 – R-групп аминокислот **1**: 116, 125
 – определение по кривой титрования **1**: 124, 126
Plasmodium falciparum **2**: 107
Pol I, см. РНК-полимераза I
Pol II, см. РНК-полимераза II
Pol III, см. РНК-полимераза III
pol-ген **3**: 145, 146, 148
 PPAR (активируемые пролифераторами пероксисомные рецепторы) **2**: 612, 613
pRb (белок ретинобластомы) **1**: 596, 665, 670
Propionibacterium freudenreichii, в ферментации **2**: 96
pumilio **3**: 275, 276
 Р-сайт **3**: 197

R
R₂C₂ комплекс протеинкиназы **1**: 599, 604, 615
Raf-1 **1**: 619, 622
RAG-белки **3**: 97, 98
Ran GTPаза **3**: 216, 217
Ra-белок **1**: 600, 601, 619
 – мутации **1**: 670
 – переключатели **1**: 600
ras-онкоген **1**: 670, 671
Rb-ген **1**: 670, 671
 – белок **1**: 665
RecA **3**: 86–89
 – в SOS-ответе **3**: 78
RecBCD фермент **3**: 85, 86, 89
RF-1 **3**: 179, 202, 204
RF-2 **3**: 179, 202, 204
RFA **3**: 65
RFC **3**: 65
RGS-белки **1**: 601, 658
Rhodobacter sphaeroides **2**: 368, 369
Rhodopseudomonas viridis **2**: 368, 369
Rhodospirillum rubrum **2**: 367, 408
 RS-номенклатура стереоизомеров **1**: 36, 37, 39

RU486 (мифепристон) **1**: 644
RuvA-белок **3**: 85, 89
RuvB-белок **3**: 85, 89
RuvC-белок **3**: 85, 89, 93
 R-состояние гемоглобина **1**: 235

S

ΔS (изменение энтропии) **1**: 44, 212, 282
Saccharomyces cerevisiae, см. Дрожжи
Salmonella typhimurium **3**: 254
 – липополисахариды **1**: 370
SCOP, база данных **1**: 202–205
SDS, см. Додецилсульфат натрия
SecA/В-шапероны **3**: 218
SELEX-метод **3**: 154, 155
SERCA-насос **1**: 560, 561
SH2-домен **1**: 619, 622, 624, 625
SINE **3**: 177, 178
S_N1-механизм **1**: 312, 313
S_N2-механизм **1**: 312, 313
SNAP25 **1**: 548
SNARE-белки **1**: 548
SNP (полиморфизм одного нуклеотида) **1**: 460
SOS-ответ **3**: 249
Sp1, домены **3**: 265, 266
Src **1**: 619, 630
SREBP, транскрипционный фактор **2**: 151
SRP (сигнал-распознающая частица) **3**: 211, 212
STAT, транскрипционные факторы **1**: 624–627
Streptococcus pneumoniae **1**: 400
Streptomyces lividans **1**: 536, 575
SWI/SNF, в ремоделировании хроматина **3**: 259, 260, 265
SWR1, в ремоделировании хроматина **3**: 259, 260

T

T₃ (трииодтиронин) **2**: 575
T₄ (тироксин) **2**: 575
TATA-бокс **3**: 112, 118, 119
TATA-связывающий белок (TBP) **3**: 118–120
TyC-плечо tPHK **3**: 185
 Тер-последовательность **3**: 62, 63
Tetrahymena thermophila **3**: 127, 139, 140, 151
TFII **3**: 118–121

Ti-плазмида, в клонировании растений **1**: 469–471
TRF1 **3**: 150, 151
TRF2 **3**: 150, 151
Trp-оперон, аттенуация транскрипции **3**: 246–249
Trp-репрессор **3**: 247
Trypanosoma brucei rhodesiense **2**: 541
t-SNARE **1**: 548
TUF PHK **3**: 157
 Tus-Тег комплекс **3**: 63
T-ДНК, в клонировании растений **1**: 471
T-клетки **1**: 249, 250
 – рецепторы **1**: 250
T-петля **3**: 150, 151
T-состояние гемоглобина **1**: 235
T-хелперы (*T_H*-клетки) **1**: 250

U

UAS (активаторная последовательность) **3**: 261
ubx **3**: 277
UDP (уридиндифосфат) **2**: 89, 435
UDP-глюкоза **2**: 16, 89
 – в синтезе гликогена **2**: 161–163
 – сахарозы **2**: 428, 429
 – целлюлозы **2**: 432–434
UDP-глюкозопирофосфорилаза **2**: 161, 429
ultrabithorax **3**: 277
UMP (уридин-5'-монофосфат) **1**: 394; **2**: 547
Umi белки, в репарации ДНК **3**: 77, 78
UTP (уридинтрифосфат) **1**: 48
UvrA, в репарации ДНК **3**: 74, 78
UvrB, в репарации ДНК **3**: 74, 78
UvrC, в репарации ДНК **3**: 74, 78
uvrD, в репарации ДНК **3**: 78

V

v-SNARE **1**: 548

X

XerCD система **3**: 93
X-сцепленная аденолейкодистрофия (*XALD*) **2**: 246

Z

Z-диск **1**: 259–261
Z-ДНК **1**: 405
Z-схема **2**: 372, 373

А

Абзимы, *см.* Каталитические анти-тела

Абиотический синтез 1: 56

Абсолютная конфигурация 1: 117

Абсолютная температура, единицы 1: 276

Авандия 2: 470, 612, 617

Авидин 2: 207, 338

Авогадро число 2: 13

Автономно реплицирующиеся последовательности (АРП) 3: 64

Автотрофы 2: 5–7

Агар 1: 359

Агароза 1: 359, 362

Аггрекан 1: 366, 367

Агонисты рецепторов 1: 597

Адаптерная гипотеза 3: 166, 167

Адаптерные белки, в сигнальных путях 1: 617, 629

Адгезионные молекулы 1: 372, 549

Аденилаткиназа 2: 41, 550, 610

Аденилатциклаза 1: 326, 427, 599, 602–604, 608

Аденилтрансфераза 2: 515, 516

Аденирование 2: 38, 515, 516

– ферментов 1: 324

Аденин, 1: 392, 399; 2: 544

– биосинтез 2: 557, 574

– дезаминирование 1: 416

– клеточная концентрация 2: 30

– регуляция метаболизма 2: 129–131

– транслонка 2: 339

– эволюционное значение 3: 152, 153

S-Аденозилгомоцистеин 2: 284

S-Аденозилметионин (AdoMet) 2: 284

– в качестве мутагена 1: 323

– синтез 2: 294

Аденозин 1: 394

– анти-форма 1: 404

– как кофактор ферментов 1: 425, 426

– метилирование 1: 419

– син-форма 1: 404

– эволюционное значение 1: 425

Аденозин-3',5'-циклический монофосфат, *см.* cAMP

Аденозин-2',3'-циклический монофосфат 1: 394

Аденозин-2'-монофосфат 1: 395

Аденозин-3'-монофосфат 1: 394

Аденозин-5'-монофосфат 1: 394; *см. также* AMP

Аденозиндезаминаза 2: 556

– генная терапия при недостаточности 1: 475

Аденозиндифосфат, *см.* ADP

Аденозинтрифосфат, *см.* ATP

Аденозинфосфорибозилтрансфераза 2: 556

Адипозная ткань, *см.* Белая жировая ткань, Бурая жировая ткань

Адиопокины 2: 605

Адинопектин 2: 610–612, 617

Адиопоциты 1: 491, 492; 2: 585–587, 605

– синтез NADH 2: 454

Адреналин 1: 597, 598; 2: 173, 539, 602

– в метаболизме глюкозы 2: 539

– липидов 2: 539

– как нейромедиатор и гормон 2: 566

– как усилитель сигнала 2: 570, 578

– каскадный механизм 1: 606; 2: 166

– регуляция 1: 597, 598

– синтез 2: 539

– синтетические аналоги 1: 597

Адренергические рецепторы 1: 597

– в рафтах 1: 632

– десенсибилизация 1: 606, 607

– киназа (ARK) 1: 327

Адренолейкодистрофия 2: 246

Адсорбционная хроматография 1: 515, 516

Азасерин 2: 558

Азидотимидин (AZT) 3: 147

Азот

– включение в аминокислоты 2: 513

– восстановление до аммиака 2: 510–513

– выведение 2: 273

– круговорот в биосфере 2: 6

– метаболизм 2: 510–517

– оксид, *см.* Моноксид азота

– растворимость в воде 1: 79

– фиксация нитрогеназным комплексом 2: 510–513

– цикл 2: 506

Азотистая кислота как мутаген 1: 418

Азотистые основания 1: 392; *см. также* Пурины; Пиримидины

– спаривание 1: 399

Азотистый иприт 1: 418

Аквапорины 1: 556, 571–573

Аконитаза (аконитатгидратаза) 2: 192–195

– «скрытая функция» 2: 193

цис-Аконитат 2: 192

Акридин 3: 121, 122

Активаторная последовательность (UAS) 3: 261

Активаторы транскрипции 3: 232

Активационный барьер 1: 47, 48

Активный транспорт 1: 558, 567

– вторичный 1: 558

– первичный 1: 558

– роль ATP 2: 339, 593

Активный центр 1: 273

– комплементарность переходному состоянию 1: 278

Активные формы кислорода (АФК) 2: 324, 345

Актин 1: 258–261

– филаменты 1: 24, 258–261

α-Актинин 1: 259

Актомицин D 3: 121

Актос (пиоглилизон) 2: 612, 617

Акцепторный контроль 2: 343

– коэффициент 2: 343

Аланил-глутамил-глицил-лизин 1: 129

Аланин 1: 34; 2: 70

– в транспорте аминокислот в печень 2: 271

– расщепление до пирувата 2: 70, 100, 584

– свойства 1: 179; 2: 581

– стереоизомеры 1: 37, 115, 117

– структура 1: 34

Аланинаминотрансфераза (АЛТ) 2: 269, 271

Алкалоз 1: 93

Алкаптонурия 2: 292

Алкены 2: 46

Алкилирующие агенты как мутагены 1: 418

Алкогольдегидрогеназа 1: 297; 2: 53, 250

Аллантоин 2: 556

Аллели 1: 246, 455, 670

– АРОЕ, при болезни Альцгеймера 2: 487

Аллигаторы, анаэробный метаболизм 2: 92

Аллоза 1: 342

Аллопуринол 2: 557

Аллостерическая регуляция

– аспартаткарбамоилазы 2: 548, 549

– биосинтеза аминокислот 2: 529–531

– глутаминсинтетазы 2: 529, 530

– метаболизма жиров 2: 173

– метаболизма углеводов 2: 171–173

– образования ацетил-КоА 2: 208, 209

Аллостерические белки 1: 237

Аллостерические модуляторы 1: 319–322

Аллоsterические ферменты

1: 319–323

Аллоsterические эффекторы 1: 319

Алпер Тиква 1: 218

АЛТ, см. Аланинаминотрансфераза

Альбертс Альфред 2: 494, 495

Альбинизм 2: 287

Альбумин

– в сыворотке 2: 230, 536, 584, 592

– ген 3: 131

Альдегиддегидрогеназа 2: 250

Альдегиды 1: 31, 340

– и полуацетали 1: 343, 344

– и полукетали 1: 343, 344

Альдогексозы 1: 341, 342

Альдозы 1: 341–344

Альдолазы 2: 73, 74, 128

– в цикле Кальвина 2: 412, 413

– классы 2: 73, 74

Альдольная конденсация 1: 23

Альдостерон 1: 509

Альтроза 1: 342

Альцгеймера болезнь

– аполипопротеины 2: 487

– отложение амилоида 1: 215, 216

 α -Амантин 3: 122

Амарил 2: 597

Амиды, стандартное изменение сво-

бодной энергии 2: 16

Амилаза 1: 355 2: 86, 87

Амилоза 1: 353–355, 358; см. также

Крахмал

Амилоид 1: 215–217

Амилоидоз 1: 215–217

Амилопектин 1: 353–355, 358; 2: 87,

428; см. также Крахмал

Амилопласты 2: 405, 406

Аминоацил-связывающий (А) сайт

рибосомы 3: 197

Аминоацил-тРНК 3: 179, 186

Аминоацил-тРНК-синтазы 3: 179,

186

 α -Аминогруппы, перенос на α -кетоглутарат 2: 263, 266

Аминокислотная последователь-

ность 1: 33, 53, 142–148

– в эволюционном анализе

1: 156–160

– гомологии 1: 158, 462, 483

– консенсусная 1: 155, 156

– определение 1: 142–152

– методами масс-спектрометрии

1: 148–151

– по Сенгеру 1: 145

– по Эдману 1: 145

– синтез коротких пептидов 1: 152,

153

– соответствие последовательности
ДНК 1: 151, 152

Аминокислотные остатки 1: 33, 38

– С-концевые 1: 128

– N-концевые 1: 128, 144, 145

– изопренелирование 3: 207

– и продолжительность жизни

белка 3: 221, 222

– последовательность 1: 142–148

– фарнезелирование 3: 207

– фосфорилирование 1: 324–327

Аминокислоты 1: 113–127; 2: 278; см.

также названия аминокислот

– 20 основных 1: 119

– R-группы 1: 114, 118–120

– активация, в синтезе белка 3: 179

– биосинтез 2: 518–532

– в α -спиралях 1: 177–181– в β -структурах 1: 181–183

– глюкогенные 2: 104, 105, 280, 281

– заменимые 2: 278

– как амфолиты 1: 123

– катаболизм 2: 261–298

– генетические нарушения 2: 287,

290–292

– кетогенные 2: 280, 281

– кислотно-основные свойства

1: 126, 127

– кодоны 3: 167, 191–194

– кривые титрования 1: 123–126

– незаменимые 2: 278

– нестандартные 1: 120–123

– образование пептидной связи

1: 127

– окисление 2: 261–294

– полярность 1: 118

– с разветвленной цепью, отсутствие

расщепления в печени 2: 296,

297

– сокращенные названия 1: 115

– стереоизомеры 1: 38, 115–118

– цвиттер-ионы 1: 123

 δ -Аминолевулилат, биосинтез 2: 533 γ -Аминомасляная кислота (ГАМК)

2: 272, 539

– рецепторы как ионные каналы

1: 579, 640

Аминопептидазы 2: 264

Аминоптерин 2: 558

Аминосахара 1: 346, 360

Аминотрансферазы 2: 266, 267; см.

также Трансаминазы

– пиридоксальфосфат как простети-

ческая группа 2: 266, 267

Амины 1: 31

– как продукты декарбоксилирова-

ния аминокислот 2: 268, 538, 539

Аммиак

– в метаболизме азота 2: 6, 506–509

– аминокислот 2: 262–264

– в образовании мочевины 2: 273,

274

– высвобождение глутаматом 2: 269

– перенос аланином 2: 270, 271

– токсичность 2: 270, 272, 278

Аммонийионные виды 2: 273

Аммония цианид 3: 152

Амоксициллин 1: 317

Амплификация ДНК методом ПЦР

1: 452

Амфиболические пути 2: 203

Амфитропные белки 1: 530, 531

Амфифильные соединения 1: 78, 81,

496

Амфолиты 1: 123, 127

Амфотерные аминокислоты 1: 123

Анаболизм 1: 48, 49; 2: 7

– цикл лимонной кислоты 2: 182, 203

Анаболические пути 2: 8, 9, 582, 610

– в метаболизме углеводов

2: 403, 582

– перенос энергии 2: 7, 404, 454

Аналит 1: 149

Анаммокс 2: 507–509

Анаммоксосомы 2: 508, 509

Анандамид 1: 622

Анаплеротические реакции, в цикле

лимонной кислоты 2: 188,

203–205

Анаэробные бактерии, неполный

цикл лимонной кислоты 2: 202

Анаэробный метаболизм у целакан-

тов 2: 92

Ангидриды кислот, стандартное

изменение свободной энергии

2: 16, 29

Ангстрем (Å) 1: 177

Андерсена болезнь 2: 159

Андрогены 2: 495

– синтез 2: 575

Анемия

– мегалобластная 2: 284

– пернициозная, роль витамина B₁₂

2: 284

Анионообменивающий (АЕ) белок

1: 557

Анионообменник 1: 132; см. также

Ионообменная хроматография

Аничков Н. Н. 2: 493

Анкирин 1: 543

Аннотирование генов 1: 62

Аномальные трихроматы 1: 656

Аномерный углерод 1: 344, 350, 351

Аномеры 1: 344

Анорексигенные нейроны 2: 607–609
 Анри Виктор 1: 286
 Антагонисты рецепторов 1: 597, 644
 Антеннапедии 3: 278, 279
 Антенны хлорофиллов 2: 304, 362, 365, 366, 369–377
 Антибиотики
 – ингибирование гликозилирования белков 3: 213, 214
 – ингибиторы топоизомераз 3: 24
 – ингибиторы транскрипции 3: 121, 122
 – ингибиторы трансляции 3: 208, 209
 – механизм действия 1: 314–317, 570; 2: 560; 3: 208, 209
 – перенос генов устойчивости на плаزمиды 1: 21, 439, 471; 3: 10
 – устойчивость бактерий 1: 157
 Антигенная вариабельность 3: 256
 Антигенная детерминанта (эпитоп) 1: 250
 Антигены 1: 250
 – взаимодействие с антителами 1: 249–251
 Антидиуретический гормон (вазо-прессин) 2: 576–578
 Антикодон 3: 173
 Антипорт 1: 370, 380; 2: 411, 416
 – Na^+/K^+ -АТРаза 2: 590
 – в мембранном транспорте в нейронах 2: 590
 – в сетчатке 1: 651–653
 – роль в поляризации мембраны 2: 339, 340
 – для триозофосфатов 2: 417, 418
 Антитела 1: 249, 251; *см. также* Иммуноглобулины
 – в анализе 1: 254–256
 – как результат рекомбинации 3: 96, 97
 – каталитические 1: 307, 308
 – моноклональные 1: 254
 – поликлональные 1: 254
 – разнообразие 1: 250
 – специфичность связывания 1: 253
 Анфинсен Кристиан 1: 209, 210
 Апоаконитаза 2: 193
 Аполипопротеины 2: 228, 485–489
 – в болезни Альцгеймера 2: 487, 488
 – редактирование РНК 3: 176–178
 Апопротеин 1: 272
 Апоптоз 1: 672, 673
 – липоапоптоз 2: 616
 – роль митохондрий 2: 347, 350
 – роль цитохрома P-450 2: 347
 – фактор активации Araf-1 2: 350
 Апоптосома 2: 350

Апофермент 1: 272
 Аппетит, гормональный контроль 2: 605–610
 Аптамеры 3: 154, 155, 254
 Арабиноза 1: 343
 Арахидовая кислота 1: 489
 Арахидонат 1: 508; 2: 461–463
 Арахидоновая кислота 1: 508; 2: 572
 Арбер Вернер 1: 435
 Аргиназа 2: 273, 520
 Аргинин 1: 116
 – биосинтез 2: 519–521
 – в синтезе оксида азота 2: 542, 576
 – превращение в α -кетоглутарат 2: 292
 – свойства 1: 116
 Аргининемия 2: 287
 Аргининосукцинат 2: 273, 275
 Аргининосукцинатная ацидемия 2: 287
 Аргининосукцинатсинтетаза 2: 273, 275
 Арнон Даниэль 2: 382
 Ароматические аминокислоты, *см. также* Аминокислоты
 – в биосинтезе веществ в растениях 2: 523, 526
 Аррестины
 – 1 1: 654
 – 2 (β -аррестин) 1: 606, 607, 654
 Археи 1: 18–20
 – мембранные липиды 1: 496, 500, 501
 Асимметрия молекул 1: 184
 Аскорбат 1: 190, 191
 Аскорбиновая кислота, *см.* Витамин С
 Аспарагин 1: 114, 116; 2: 278, 304, 518, 523
 – расщепление до оксалоацетата 2: 104, 297
 – свойства 1: 116, 120
 Аспарагиназа 2: 523
 Аспарагиновая кислота 1: 116; 2: 304, 518, 523
 Аспартам 1: 39, 69, 129
 Аспартат 1: 78, 116, 120; 2: 274, 523, 531
 – в C_4 -пути 2: 424, 425
 – расщепление до оксалоацетата 2: 297
 – свойства 1: 116, 120
 – синтез пиримидинов 2: 544, 547, 548
 Аспартаминотрансфераза (АСТ) 2: 267, 269, 274
 Аспартат-аргининосукцинатный шунт 2: 276

Аспартаттранскарбамоилаза 1: 321; 2: 548, 549
 Аспирин 2: 461–463; *см. также* Ацетилсалициловая кислота
 Астбери Уильям 1: 177
 Атеросклероз 2: 493, 494
 – роль *транс*-жирных кислот 1: 494
 Атом
 – электроотрицательность 1: 70, 75, 76, 304
 – водорода, в переносе электронов 2: 46
 Атомная масса, единицы 1: 32
 Атомно-силовая микроскопия 1: 544
 Атриальный натрийуретический фактор (ANF) 1: 627
 Аттрактанты 1: 645
 Ауксины 1: 470; 2: 538
 Аутокринные гормоны 2: 571, 605
 Аутосплайсирующиеся интроны 3: 125, 140, 153
 Аутофосфорилирование, *см. также* Фосфорилирование
 – в бактериях 1: 645
 – в проведении сигнала инсулина 1: 621
 – в растениях 1: 648, 649
 – в сигнальных путях 1: 625
 Африканская сонная болезнь (трипаномоз) 1: 540–542
 Аффинная хроматография 1: 135, 379, 447
 Ахиральные молекулы 1: 35
 Ацеталь 2: 343, 348
 Ацетальдегид 2: 49
 Ацетат
 – активированный 2: 199–203
 – в синтезе жирных кислот 2: 213, 214
 – в синтезе холестерина 2: 480, 481
 – как источник фосфоенолпирувата 2: 212
 – транспорт 2: 213, 214
 Ацетил-CoA 1: 426
 – в метаболизме глюкозы 2: 582
 – в синтезе жирных кислот 2: 446–456
 – в синтезе холестерина 2: 480
 – гидролиз 2: 34
 – метаболизм в печени 2: 252, 582, 583, 584
 – образование при β -окислении 2: 235
 – окисление в цикле лимонной кислоты 2: 237
 – окисление пирувата 2: 183
 Ацетил-CoA-АСР-трансфераза 2: 450

Ацетил-СоА-карбоксилаза
 – в бактериях 2: 457
 – в растениях 2: 457
 – в синтезе жирных кислот 2: 151, 243, 446, 457
 N-Ацетилгалактозамин 1: 390
 N-Ацетилглутамат в синтезе мочевины 2: 277
 N-Ацетилглутаматсинтаза 2: 277, 279
 N-Ацетилглюкозамин 1: 311, 313, 490
 – в синтезе пептидогликанов 2: 435
 Ацетилен 2: 45
 Ацетил-кофермент А, см. Ацетил-СоА
 N-Ацетилмуравовая кислота 1: 311, 313, 347
 – в синтезе пептидогликанов 2: 435
 N-Ацетилнейраминная кислота 1: 311, 313, 376
 – в ганглиозидах 2: 502
 Ацетилсалициловая кислота (аспирин) 2: 461, 462
 Ацетилхолиновый рецептор 1: 578, 579, 638
 – в передаче сигнала 1: 635, 636
 – дефекты 1: 581
 – открытая/закрытая конформация 1: 579
 – синаптическая агрегация 1: 542
 – структура 1: 638
 Ацетоацетат 2: 63, 85, 251–252
 Ацетоацетатдекарбоксилаза 2: 252
 Ацетоацетат-АСР 2: 450, 451
 Ацетоацетил-СоА 1: 425; 2: 252, 253
 Ацетогруппа
 – в синтезе жирных кислот 2: 213, 214
 – транспорт 2: 213, 214
 Ацетон 2: 466, 603
 – при диабетическом кетоацидозе 2: 603
 Ацивин 2: 558
 Ацивирин 2: 558
 Ацидемия
 – аргининосукцинатная 2: 287
 – метилмалоновая 2: 287, 295
 Ацидоз 1: 93, 102; 2: 254, 604
 – диабетический 2: 603, 604
 Ацикловир 3: 66
 Ацил-СоА
 – в превращениях жирных кислот 2: 231
 – производные жирных кислот 2: 230, 231
 – в синтезе триацилглицеринов 2: 464–466
 Ацил-СоА-ацетилтрансфераза 2: 235

Ацил-СоА-ацетилтрансфераза (тиолаза) 2: 235
 Ацил-СоА-дегидрогеназы 2: 234, 237, 316
 – генетические дефекты 2: 245
 – средней цепи (MCAD) 2: 245
 Ацил-СоА-десатураза 2: 458
 Ацил-СоА-синтазы 2: 230, 231
 – в синтезе триацилглицеринов 2: 465
 Ацил-СоА-холестеринацил-трансфераза (ACAT) 2: 485, 492
 Ацилкарнитиновый переносчик 2: 231, 232
 Ацилпереносящий белок (АСР) 2: 449, 450
 N-Ацилсфинганин 2: 476, 478
 N-Ацилсфингозин 2: 476, 478
 Ацилферменты 1: 302, 305
 Ацилфосфат 2: 33, 76
 Аэробные организмы, эволюция 1: 60
 Аэробный метаболизм, у мелких позвоночных 2: 92
 Аэролизин k 1: 150

Б

Базы данных
 – белковых структур 1: 431, 463
 – геномные 1: 444, 449, 457, 459, 462, 466
 Бактериальный геном 3: 10, 11
 – секвенирование 1: 458, 459
 Бактерии 1: 19–24; см. также *Escherichia coli*
 – аминокислотный состав 2: 538
 – анаэробные, фиксация азота 2: 507–509
 – галофильные, синтез АТФ 2: 387–389
 – гетерополисахариды клеточной стенки 1: 358
 – грамотрицательные 1: 21
 – грамположительные 1: 21
 – зеленые серные 2: 368, 386
 – калиевые каналы 1: 575, 576
 – лектины 1: 374
 – липополисахариды 1: 370
 – пурпурные 1: 60, 532, 544; 2: 367, 369, 386
 – регуляция экспрессии 3: 243–256
 – репликация ДНК 3: 45–66
 – синтез гликогена 2: 427
 – синтез пептидогликанов 2: 433–435
 – синтез целлюлозы 2: 433
 – устойчивость к антибиотикам 1: 316, 317

– эндосимбиотические 1: 59, 60
 – эволюция хлоропластов 2: 386
 – эволюция митохондрий 2: 352
 Бактериородопсин 1: 222; 2: 388, 389
 – как световой протонный насос 1: 84, 2: 389
 – микроскопический анализ 1: 544
 – структура 1: 532
 Бактериофаг λ 1: 435, 440–442; 3: 91, 92
 Баллард Джон 2: 468
 Балтимор Дэвид 3: 144, 145
 Бантинг Фредерик 2: 568
 Бевацизумаб (авастин) 1: 669
 Бекстра 2: 462, 463
 Белая жировая ткань 2: 585–588
 Белки 1: 132–262
 – аллостерические 1: 237
 – аполипептиды 2: 485–487
 – базы данных 1: 193, 203–205
 – биосинтез 3: 178–209
 – время полужизни 2: 125, 582, 512
 – вторичная структура 1: 141, 177–183
 – глобулярные 1: 185, 192–205
 – гомологичные 1: 61
 – денатурация 1: 208, 209
 – домены 1: 200
 – железо-серные 2: 309, 310
 – Рискс 2: 310, 317, 376
 – заякоривающие киназу А (АКАР) 1: 604, 608, 609, 616, 617
 – зимогены 1: 328, 329
 – иммунной системы, см. Иммуноглобулины
 – каталитические, см. Ферменты
 – кислород-связывающие 1: 226–246
 – классификация по структурным признакам 1: 203, 204
 – конформация 1: 172
 – конъюгированные 1: 363–369
 – липопептиды 2: 485–487
 – мембранные, см. Мембранные белки
 – методы выделения и анализа 1: 132–140, 149–152, 184, 196–199
 – мотивы укладки 1: 200–205; 3: 239–242
 – моторные 1: 256–262
 – мультимерные 1: 205
 – мультисубъединичные 1: 130
 – мультифункциональный 2: 248
 – нативные 1: 172
 – олигомерные 1: 130
 – ортологичные 1: 61
 – паралогичные 1: 61
 – первичная структура 1: 141–148

– плазмы крови **2**: 485, 591, 592
 – полиморфные **1**: 142
 – посттрансляционный процессинг **3**: 180, 208
 – пробелки **1**: 328
 – протеолитическая активация **1**: 319, 328, 329
 – протомерные **1**: 130
 – разобщающий, см. Термогенин
 – регуляторные **3**: 237–242
 – ренатурация **1**: 209
 – рибосомные **3**: 180, 250, 251
 – с высокой электрофоретической подвижностью (HMG) **3**: 262
 – свертывание (фолдинг) **1**: 210–215
 – нарушения **1**: 215–218
 – семейства и суперсемейства **1**: 203
 – слияния **1**: 547
 – сложные **1**: 131
 – стабильность **1**: 172
 – третичная и четвертичная структура **1**: 141, 184–208
 – трифункциональный **2**: 235
 – фибриллярные **1**: 185–192
 – флавопротенны **2**: 54, 55
 – фосфорилирование/дефосфорилирование **2**: 127
 Белые клетки крови (лейкоциты) **2**: 592

Белые мышцы **2**: 587
 Бензоаты **2**: 278
 Бензоил-СоА **2**: 278
 Берг Пол **1**: 433, 438
 Бергстром Суне **1**: 508
 Берсон Соломон **2**: 569
 Бест Чарлз **2**: 568
 Билл Джордж **2**: 193; **3**: 8
 Бикарбонат **1**: 79
 – буферные свойства **1**: 99–101
 – образование **1**: 242, 556
 Биливердин **2**: 535
 Билирубин **2**: 535, 536
 Биоинформатика **1**: 115, 156, 212
 БиOLUMИнесценция, цикл у светлячков **2**: 39

Биомолекулы
 – амфифильные **1**: 78, 81
 – асимметричные **1**: 35
 – конформация **1**: 38
 – макромолекулы **1**: 31
 – молекулярная масса **1**: 32
 – происхождение **1**: 55, 56
 – стереоспецифичность **1**: 37, 38
 – функциональные группы **1**: 29, 30
 – хиральные **1**: 35

Биотин **2**: 205, 207, 281
 – в пируваткарбоксилазной реакции **2**: 100, 101, 205–207
 – в реакции ацетил-СоА-карбоксилазы **2**: 446, 447
 – в синтезе фосфоенолпирувата из пирувата **2**: 100
 – недостаточность **2**: 207
 Биохимические реакции
 – внутримолекулярные перегруппировки **2**: 23
 – изомеризация **2**: 23, 24
 – и химические реакции **2**: 27, 28
 – нуклеофильные **2**: 21
 – окислительно-восстановительные **2**: 26; см. также Окислительно-восстановительные реакции
 – распространенные типы **2**: 20–26
 – расщепление связи **2**: 20, 21
 – свободнорадикальные **2**: 24, 25
 – с переносом групп **2**: 25
 – электрофильные **2**: 21
 – элиминирование **2**: 23, 24
 Биотин **2**: 63
 Биоэнергетика **1**: 44; **2**: 13
 Бисульфиты, мутагенные свойства **1**: 418
 Бисфосфаты **2**: 73
 1,3-Бисфосфоглицерат **2**: 202
 – гидролиз **2**: 32
 – синтез **2**: 76, 79
 2,3-Бисфосфоглицерат, в связывании гемоглобина с кислородом **1**: 245
 Бишоп Майкл **3**: 146
 Блобел Гюнтер **3**: 210
 Блох Конрад **2**: 445, 484
 Богатый глутамином домэн **3**: 265, 266
 Бойер Герберт **1**: 433
 Бойер Поль **2**: 336, 338
 Больцмана константа **2**: 13
 Большая бороздка **1**: 401
 Бор Кристиан **1**: 243
 Бор Нильс **1**: 243
 Бора эффект **1**: 243
 Борьба или бегство, реакция **1**: 173, 602, 603
 α/β -Бочонок **1**: 451, 200, 202
 Брассинолид **1**: 509, 647
 Брассиностероиды **1**: 647
 Браун Майкл **2**: 490, 493
 Брожение, при пивоварении **2**: 94–96; см. также Ферментация
 Бунгаротоксин **1**: 581
 Бурая жировая ткань **2**: 585–588
 – митохондрии **2**: 348
 Буферные системы **1**: 96–98

Бухнер Эдуард **1**: 270; **2**: 66, 132
 Быстро сокращающиеся мышцы **2**: 587, 588
 Бычья губчатая энцефалопатия **1**: 217, 218
 Бьюкенен Джон **2**: 544

В

Вагелос П. Рой **2**: 494
 Вазопрессин **2**: 576, 577
 Вакцины, на основе вирусов **3**: 146
 Валин **1**: 118
 – биосинтез **2**: 523, 524
 – в гемоглобине S **1**: 247
 – катаболизм **2**: 288, 294, 296, 297
 Валиномицин **1**: 571
 Ванадат **1**: 560
 Ван-дер-Ваальса радиус **1**: 34, 35
 Ван-дер-ваальсовы взаимодействия **1**: 82, 83
 Вант-Гоффа уравнение **1**: 85
 Варбург Отто **2**: 60, 66, 80–83
 Варбурга эффект **2**: 80
 Вармус Харольд **3**: 146
 Варфарин **1**: 512
 Везикулы **1**: 529
 Вейн Джон **1**: 508
 Векторные реакции, в окислительном фосфорилировании **2**: 315, 323
 Векторы, см. Клонирование векторов
 Вентер Дж. Крэйг **1**: 458
 Вернике–Корсакова синдром **2**: 112
 Вёзе Карл **1**: 19, 156; **3**: 152
 Виагра (силденафил) **1**: 628
 Видимый свет
 – поглощение фотопигментами **2**: 361–365
 – электромагнитное излучение **2**: 359, 360
 Виментин **1**: 259
 Винтовая (спиральная) симметрия **1**: 207
 Виокс **2**: 462, 463
 Вирусная инфекция
 – вакцины **3**: 146
 – и онкогены **1**: 666
 – и рак **3**: 146
 – проникновение в клетку **1**: 374
 Вирусные векторы **1**: 473, 474
 Вирусонд **3**: 139, 142
 Вирусы, см. также ВИЧ; Ретровирусы
 – в генной терапии **1**: 475, 476
 – геном **3**: 145
 – ДНК **3**: 9
 – ДНК-полимераза **3**: 66

– и лектины **1**: 374
 – и селектины **1**: 374
 – капсид **1**: 207
 – простого герпеса, ДНК-полимераза **3**: 66
 – РНК **3**: 151
 – саркома Рауса **3**: 146
 Витамины **1**: 510–512
 – А (ретинол) **1**: 511, 652
 – В₁₂ (кобаламин) **2**: 240–242
 – С **1**: 189–191
 – D **2**: 575
 – D₂ (эргокальциферол) **1**: 511
 – D₃ (холекальциферол) **1**: 510, 511
 – Е (токоферол) **1**: 512
 – К **1**: 512
 – К₁ (филлохинон) **1**: 512
 – К₂ (менахинон) **1**: 512
 – изопrenoиды **1**: 512, 513
 – биосинтез **2**: 497
 – ниацин **2**: 51, 53
 ВИЧ (вирус иммунодефицита человека)
 – как пример ретровируса **1**: 317;
3: 146, 147
 – лечение **1**: 307, 318; **3**: 147
 Вкус, сигнальные механизмы **1**: 656,
 657
 Внеклеточный матрикс
 – гликозаминогликаны **1**: 359, 360
 – протеогликины **1**: 363, 364
 Внутренняя адаптерная последовательность **3**: 139
 Внутренние петли, РНК **1**: 409, 410
 Внутренний фактор **2**: 242
 Вода **1**: 73–79
 – мембранный транспорт **1**: 556,
 571–573
 – расщепление **2**: 379–381
 Водные растворы, *см. также* Вода
 – рН **1**: 88–91
 – амфифильные соединения **1**: 78,
 81, 496
 – буферные системы **1**: 97, 98
 – гипертонические **1**: 86
 – гипотонические **1**: 86
 – изотонические **1**: 85–87
 – коллигативные свойства **1**: 84
 – осмолярность **1**: 85
 – слабые кислоты и основания
1: 94–96
 Водород, перенос гемоглобином
1: 242, 244
 Водородные связи **1**: 75
 – в белках **1**: 173, 174, 178
 – в воде **1**: 73–75

– в нуклеиновых кислотах **1**: 52,
 399, 402, 406
 – в полисахаридах **1**: 353, 355, 358
 – типы в биологических системах
1: 76
 Водоросли, гетерополисахариды
 клеточной стенки **1**: 359
 Возбужденное состояние молекулы
2: 360
 Волосы
 – α-кератин **1**: 177, 185, 186
 – химическая завивка **1**: 187
 Воск **1**: 493, 495
 – пчелиный **1**: 495
 Восстанавливающие концы **1**: 347,
 354
 Восстанавливающие сахара **1**: 347
 Восстановительный пентозофосфат-
 ный путь **2**: 112, 406
 Восстановительный потенциал **2**: 311
 – стандартный **2**: 47, 48, 312, 322
 Восстановительный эквивалент
2: 46, 309
 Вращательная (поворотная) симме-
 трия **1**: 207
 Вращательный катализ **2**: 306, 336,
 337
 Врожденная ночная слепота **1**: 581
 Врожденная парамииотония **1**: 579,
 581
 Врожденные дефекты метаболизма
1: 505
 Врожденный миастенический син-
 дром **1**: 581
 Вспомогательные пигменты **2**: 361
 Вторичная структура **1**: 141,
 177–184, 211
 – коллагена **1**: 188
 – мотивы **1**: 200
 – супервторичная **1**: 200
 – ДНК/РНК **1**: 406, 410
 Вторичный мессенджер (посредник)
1: 427, 595–515, 607, 609, 658
 – в регуляции экспрессии **3**: 252,
 268
 – нуклеотиды **1**: 391, 427, 627
 Вторичный метаболит **1**: 32
 Вторичный системный амилоидоз
1: 215
 Вули Д. Уэйн **2**: 53
 Вырожденность генетического кода
3: 171
 Высокоэффективная жидкостная
 хроматография (ВЭЖХ) **1**: 135
 Вюрц Шарль-Адольф **1**: 273, 286

Г
 Г6ФДГ, *см.* Глюкозо-6-фосфат-
 дегидрогеназа
 Газовая постоянная (*R*) **1**: 47, 85, 634;
2: 47
 Газожидкостная хроматография
 (ГЖХ) **1**: 516, 517
 Газы, растворимость **1**: 79
 D-Галактитол **2**: 90
 Галактоза **1**: 343, 345, 359, 377
 – окисление **1**: 347
 – превращение в глюкозо-1-фосфат
2: 89
 – регуляция метаболизма **3**: 263, 264
 Галактозамин **1**: 345
 Галактоземия **2**: 90, 117
 β-Галактозидаза **1**: 441; **3**: 234, 235
 Галактозидпермеаза **3**: 234, 235
 β-Галактозиды, и *lac*-оперон **3**: 235
 Галактокиназа **2**: 89, 90
 Галактолипиды **1**: 496, 500, 526
 Галапагосские вьюрки, эволюция
3: 278–280
 Галофильные бактерии, синтез АТФ
2: 387–389
 ГАМК (γ-аминомасляная кислота)
2: 272, 539
 – рецепторы **1**: 579, 640
 Ганглиозидоз **1**: 505
 Ганглиозиды **1**: 502, 503; **2**: 477
 – GD3 **1**: 376
 – GM1 **1**: 375
 – GM2 **1**: 505
 – в болезни Тея–Сакса **1**: 505
 – функции **1**: 369
 Гантены **1**: 250
 Гарден Артур **2**: 71
 Гаструцин **1**: 656
 Гастрин **2**: 264
 Гашиш **1**: 622
 ГДГТ (глицериндиалкилглицерин-
 тетраэфиры) **1**: 501
 Гексадекановая кислота **1**: 488
 Гексозомонофосфатный путь **2**: 107,
 108; *см. также* Пентозофосфат-
 ный путь
 Гексозы **1**: 340–342
 – производные **1**: 345, 346
 – фосфорилированные, в гликолизе
2: 70
 Гексокиназы **1**: 293, 308, 309; **2**: 71
 – I **2**: 141
 – II **2**: 140, 141
 – IV **2**: 142, 581, 595
 – изоформы **2**: 71, 72, 140

– ингибиторы, в противоопухолевой терапии **2**: 82, 83
 – регуляция **2**: 141–143
 Гель-электрофорез, см. Электрофорез
 Гем **1**: 227
 – А **2**: 310
 – b, в комплексе III **2**: 317
 – С **2**: 310
 – в синтезе d-аминолевулината **2**: 532, 533
 – как источник желчных пигментов **2**: 534
 – структура **1**: 227, 228
 Гемагглютенин (белок НА) **1**: 374
 Гемовая группа **1**: 205, 206
 Гемовые кофакторы цитохромов **2**: 309, 310, 317
 Гемоглобин
 – А **1**: 247
 – R/T-формы **1**: 235, 236
 – S **1**: 247
 – генетические вариации **1**: 264, 265
 – гликированный **1**: 348, 349
 – олигомерная структура **1**: 130
 – при серповидно-клеточной анемии **1**: 246–248
 – связывание кислорода **1**: 233, 237
 – эффект Бора **1**: 243
 – влияние БФГ **1**: 245
 – связывание монооксида углерода **1**: 240, 241
 – структура **1**: 141, 205, 206
 – субъединицы **1**: 83, 233–235
 – транспорт водорода **1**: 242, 244
 – транспорт диоксида углерода **1**: 242
 – транспорт кислорода **1**: 233
 Гемоцитобласты **1**: 233
 Генерализованная эпилепсия с фебрильными судорогами **1**: 581
 Генерализованный ганглиозидоз **1**: 505
 Генетика **1**: 50–52
 Генетическая карта *E. coli* **3**: 44
 Генетическая рекомбинация **3**: 81–89; см. также Рекомбинация ДНК
 Генетические заболевания
 – генная терапия **1**: 475, 476
 – нарушение фолдинга **1**: 215–218
 Генетические мутации, см. Мутации
 Генетические нарушения метаболизма аминокислот **2**: 287
 – ацил-СоА-дегидрогеназы **2**: 245
 – в цикле мочевины **2**: 277, 278

Генетический код **3**: 166–178
 Генная инженерия **1**: 434 479;
 см. также Клонирование
 Генная терапия **1**: 475, 476
 Геном **1**: 60
 – аннотированный **1**: 61, 62
 – бактерий **3**: 10
 – вирусов **3**: 9
 – дрожжей **3**: 11
 – картирование **1**: 450–452, 458, 459
 – проект «Геном человека» **1**: 458, 459
 – ПЦР в анализе **1**: 452
 – секвенирование **1**: 421, 458, 459
 – синтения **1**: 462
 – человека **1**: 460
 – эволюция **1**: 62
 – эукариот **3**: 11
 Геномика **1**: 434, 449
 – сравнительная **1**: 62, 452, 467
 – функциональная **1**: 62
 Геномные библиотеки **1**: 449–451
 Гены **3**: 8
 – гомологичные **1**: 61
 – домашнего хозяйства **3**: 230
 – иммуноглобулинов, рекомбинация **3**: 96, 97
 – материнские **3**: 273
 – ортологичные **1**: 61
 – паралогичные **1**: 61
 – парного правила **3**: 274
 – полярности сегментов **3**: 274
 – пробела **3**: 273, 276
 – сегментации **3**: 273
 – смотрители **1**: 670
 Гепарансульфат **1**: 361, 364–367
 Гепарин **1**: 360, 361
 Гепатоциты **2**: 580
 – гранулы гликогена **2**: 154, 155
 – каскад адреналина **1**: 606
 – метаболизм
 – аминокислот **2**: 582–584
 – глюкозы **2**: 581, 582
 – жирных кислот **2**: 584
 – питательных веществ **2**: 580–582
 – углеводов **2**: 581, 582
 – реутилизация триацилглицеринов **2**: 467
 – синтез NADPH **2**: 454, 455
 – синтез жирных кислот **2**: 455–457
 Гептозы **1**: 341, 370
 Геранилгеранильная группа **1**: 573
 Геранилпирофосфат, в синтезе холестерина **2**: 23, 483, 496, 502
 Гербициды, устойчивость растений **1**: 471–473
 Герса болезнь **2**: 159

Гетерозиготы, с геном серповидных эритроцитов **1**: 247, 248
 Гетеролитическое расщепление ковалентной связи **2**: 20, 21
 Гетероплазмия **2**: 354
 Гетерополисахариды **1**: 352, 359;
 см. также Полисахариды
 Гетеротропная регуляция **1**: 245, 322
 Гетеротропные ферменты **1**: 321, 323
 Гетеротрофы **1**: 20, 58
 Гетерохроматин **3**: 257
 Гиалуронат **1**: 361, 367
 Гиалуронидаза **1**: 361
 Гиалуроновая кислота **1**: 360
 Гиббс Дж. Уиллард **1**: 44
 Гиббса энергия **2**: 13; см. также Свободная энергия
 Гибридизация, см. ДНК, гибридизация; Клонирование
 Гибридные дуплексы **1**: 414, 415
 Гигантские поры **2**: 350
 Гидрид-ион **2**: 21, 183, 193, 308, 309
 β-Гидрокси-β-метилглутарил-СоА, см. HMG-СоА
 β-Гидроксиацил-АСР-дегидратаза **2**: 448, 452
 β-Гидроксиацил-СоА
 (3-гидроксиацил-СоА) **2**: 234
 β-Гидроксиацил-СоА-дегидрогеназа **2**: 234
 β-Гидроксибутират **2**: 251, 253
 – в головном мозге **2**: 590
 β-Гидроксибутиратдегидрогеназа **2**: 252
 Гидроксилазы **2**: 460
 5-Гидроксизин **1**: 120
 – в коллагене **1**: 188
 5-Гидроксиметилцитидин **1**: 395
 4-Гидроксипролин **1**: 120
 – в коллагене **1**: 187, 189, 190
 2-Гидроксипропановая кислота, см. Молочная кислота
 Гидролазы **1**: 104
 Гидролиз **1**: 104
 – АТФ **2**: 29, 35
 – ацетил-СоА **2**: 34
 – 1,3-бисфосфоглицерата **2**: 32
 – гликозидной связи **2**: 86, 87
 – глюкозо-6-фосфата **2**: 103
 – дисахаридов **1**: 351
 – и фосфорилиз **2**: 87, 88, 155
 – изменение свободной энергии **2**: 16, 33, 34
 – креатинфосфата **2**: 33
 – переходное состояние **1**: 307
 – сложных эфиров **2**: 34
 – тиоэфиров **2**: 33, 34

- фосфоенолпирувата 2: 32
- фосфорилированных соединений 2: 32, 33
- Гидропатический индекс, см. Индекс гидрофобности
- Гидрофильные соединения 1: 77
- Гидрофобные взаимодействия 1: 81, 211; см. также Слабые взаимодействия
- в глобулярных белках 1: 194, 195, 199
- и стабильность белков 1: 173, 209
- Гидрофобные соединения 1: 77, 81
- Гиймен Роже 2: 567
- Гилман Альфред 1: 598, 600
- Гильберт Вальтер 1: 419, 420
- Гипераммониемия 2: 278
- Гипергликемия, секреция инсулина 2: 85, 153
- Гиперглицинемия некротическая 2: 287
- Гиперинсулинемия 2: 598
- Гиперинсулинизма/гипераммониемии синдром 2: 270
- Гиперкалиемический паралич (врожденная парамииотония) 1: 579, 581
- Гипертонический раствор 1: 86
- Гиперфенилаланинемия 2: 291
- Гиперхолестеринемия наследственная 2: 493–495
- Гиперхромный эффект 1: 413
- Гипогликемия 2: 592, 597, 598
- Гипоксантин 1: 394, 395; 2: 555
- Гипоксантин-гуанинфосфорибозил-трансфераза 2: 556, 557
- Гипоксия 1: 245; 2: 69, 81
- адаптационные реакции 2: 345
- активные формы кислорода 2: 345
- гидролиз АТФ 2: 344
- Гипоталамо-гипофизарная система 2: 577
- Гипоталамус 2: 576–578
- в регуляции массы тела 2: 606, 607
- Гипотонический раствор 1: 86
- Гипофиз, гормоны 2: 576–568
- Гипохромный эффект 1: 413
- Гиппурат 2: 278
- Гирке болезнь 2: 159
- Гистамин 2: 530, 539, 542
- Гистидин 1: 98, 119, 120
- биосинтез 2: 529, 530
- буферные свойства 1: 98, 127
- кривая титрования 1: 126
- превращение в α -кетоглутарат 2: 292, 293
- Гистидинкиназа 1: 645
- Гистонацетилтрансферазы 3: 258, 259
- Гистондеацетилазы 3: 258, 259
- Гистоны 3: 28, 258, 259
- Глибурид 2: 597
- Гливек (иматиниб) 1: 669
- Гликаны 1: 352–354; см. также Полисахариды
- Гликированный гемоглобин 1: 349
- Гликобиология 1: 339–390
- Гликоген 1: 353; 2: 121
- биосинтез в бактериях 2: 428
- болезни накопления 2: 159, 160
- в мышцах 2: 92, 155
- в цикле Кори 2: 92, 97
- гидролиз 1: 325, 326
- гранулы, в гепатоцитах 2: 154, 155, 164
- как форма запасаения глюкозы 1: 352–354
- метаболизм 2: 154–165
- регуляция 2: 165–173
- отщепление глюкозы 2: 156
- расщепление 2: 87, 88, 155–158
- роль гликогена 2: 163, 164
- сахаронуклеотиды 2: 158
- синтез 2: 158, 162
- регуляция 2: 137, 138
- трехмерная структура 1: 358
- Гликогенез 2: 155
- Гликогенин 2: 163, 164
- и гранулы гликогена 2: 164
- Гликогенозы 2: 159
- Гликогенолиз 2: 155
- Гликогенсвязывающий белок GM 2: 171
- Гликогенсинтаза 1: 327; 2: 162, 163, 168
- α 2: 168
- β 2: 168
- киназа (GSK3) 1: 622, 630; 2: 168
- праймер 2: 163, 164
- регуляция 2: 168
- фосфорилирование 1: 168
- Гликогенфосфорилаза 2: 87, 155, 156, 160, 167
- регуляция 1: 325, 326; 2: 165, 167
- Гликозаминогликаны 1: 359–361, 363–365
- Гликозидазы 1: 379, 515
- Гликозидная связь 1: 348, 350, 355, 357, 368
- в нуклеотидах 1: 392, 404
- гидролиз 1: 311, 313, 416
- изменение свободной энергии 2: 16
- Гликозилирование белков 3: 207, 213, 214
- Гликозилфосфатидилинозит (GPI) 1: 530, 536, 537, 545
- Гликоконъюгаты 1: 339, 363
- гликолипиды 1: 364, 369
- гликопротеины 1: 363, 367–369, 3: 207, 213
- протеогликины 1: 363–367
- Гликолатный путь 2: 421, 422
- Гликолиз 2: 66–90, 144, 149
- в опухолевых тканях 2: 81–83
- в хлоропластах 2: 430
- взаимопревращения триозофосфатов 2: 74, 75
- и глюконеогенез 2: 99, 105
- согласованная регуляция 2: 139–153
- роль фруктозо-2,6-бисфосфата 2: 144–146
- изменение свободной энергии в эритроцитах 2: 98
- образование АТФ 2: 80
- подготовительная стадия 2: 67, 68, 71–75
- при пониженном содержании кислорода 2: 92
- пути, питающие 2: 86–90
- регуляция 2: 80, 105
- роль глюкозо-6-фосфатдегидрогеназы 2: 106, 107
- стадия выплаты процентов 2: 67, 68, 75–79
- участие глюкозо-6-фосфата 2: 112, 140
- Гликолипиды 1: 364, 369, 496; см. также Липиды
- нейтральные 1: 502, 515
- синтез 2: 476, 477
- транспорт 2: 478
- Гликомика 1: 369
- Гликопротеины 1: 363, 367–369; 3: 207, 213
- анализ олигосахаридной составляющей 1: 379, 380
- мембранные 1: 526, 527
- связывание с лигандами 1: 373
- топология 1: 530–532
- Гликофинголипиды 1: 503, 543
- Гликофорин 1: 369, 527, 531, 532
- Глиоксилат 2: 212, 288
- Глиоксилатный цикл 2: 212–215
- в растениях 2: 247, 436
- Глиоксисомы 2: 213, 214, 436
- β -окисление 2: 246, 247, 249
- Глипизид 2: 597
- Глипиканы 1: 364, 365
- Глифосат, устойчивость растений 1: 472, 473

- Глицеральдегид **1**: 37, 117, 342
 Глицеральдегид-3-фосфат **1**: 281;
 2: 58, 75
 – в гликолизе **2**: 67–69, 74, 75, 98
 – в цикле Кальвина **2**: 406, 407,
 410–416
 – окисление до 1,3-бисфосфоглице-
 рата **2**: 76
 – синтез **2**: 406, 410–412
 Глицеральдегид-3-фосфатдегидро-
 геназа **2**: 53, 68, 69, 76
 – активация светом **2**: 418, 419
 – механизм реакции **2**: 77
 Глицерин **1**: 491
 – в мембранных липидах архей
 1: 500, 501
 – в синтезе триацилглицеринов
 2: 465
 – в триацилглицеринах **1**: 491
 – в фосфолипидах **1**: 496, 497
 – структура **1**: 491
 – хиральность **1**: 497
 Глицерин-3-фосфат **1**: 497
 – в синтезе липидов **2**: 465, 477
 – в синтезе углеводов **2**: 436, 437
 – синтез **2**: 468
 Глицерин-3-фосфатдегидрогеназа
 2: 342, 465
 Глицерин-3-фосфатный челнок
 2: 341, 342
 Глицериндиалкилглицеринтетра-
 эферы (ГДГТ) **1**: 501
 Глицеринкиназа **2**: 465
 Глицеронеогенез **2**: 468, 469; *см. так-
 же* Метаболизм глюкозы
 Глицерофосфатацилтрансфераза
 2: 611
 Глицерофосфолипиды **1**: 497, 498;
 см. также Триацилглицерин
 – действие фосфолипаз **1**: 504
 – номенклатура **1**: 518, 519
 – полярные головки **1**: 496
 – присоединение головки **2**: 470, 471,
 473
 – синтез **2**: 464, 465
 – транспорт **2**: 478
 Глицин **1**: 93, 114, 115, 125, 126, 180;
 2: 532, 537
 – биосинтез **2**: 519, 521
 – буферные свойства **1**: 109, 125
 – в α -спиралях **1**: 176–181
 – в β -поворотах **1**: 182, 183
 – в β -слоях **1**: 181, 182
 – в коллагене **1**: 188
 – в синтезе пуринов **2**: 544
 – в фотосинтезе **2**: 326, 423
 – как предшественник порфиринов
 2: 532, 533
 – кривая титрования **1**: 123, 124
 – расщепление до пирувата **2**: 285
 – рецепторы **1**: 579, 639
 Глициндекарбоксилазный комплекс
 2: 421, 423
 Глицинрасщепляющий фермент
 (глицинсинтаза) **2**: 287, 521
 Глицинсинтаза **2**: 287, 521
 Глобины **1**: 203, 228; *см. также* Гемо-
 глобин; Миоглобин
 – структура **1**: 198, 228
 Глобозиды **1**: 502, 505
 Глобулярные белки **1**: 185 192–207
 – в модели липопротеиновых ком-
 плексов **1**: 589
 – денатурация и фолдинг **1**: 208
 – методы анализа структуры
 1: 196–199
 – β -повороты **1**: 182
 Глутамат (глутаминовая кислота)
 1: 114; **2**: 17, 274, 279, 514
 – биосинтез **2**: 513, 524
 – в биосинтезе пролина и аргинина
 2: 519, 520
 – в метаболизме азота **2**: 263, 264
 – включение аммония **2**: 513
 – высвобождение аммония **2**: 269
 – как усилитель вкуса **1**: 681
 – катаболизм **2**: 292, 293
 – кривая титрования **1**: 126
 Глутамат- γ -полуальдегид **2**: 519–521
 Глутамат-аспартатная транспортная
 система **2**: 341
 L-Глутаматдегидрогеназа **2**: 269–271
 Глутамат-оксалоацетаттрансаминаза
 (ГОТ) **2**: 269
 Глутамат-пируват-трансаминаза
 (ГПТ) **2**: 269
 Глутаматсинтаза **2**: 513, 514
 Глутамин **1**: 120; **2**: 105, 278, 517, 519
 – биосинтез **2**: 513
 – в метаболизме азота **2**: 263, 513
 – как переносчик аминогрупп **2**: 263,
 264, 270
 – катаболизм **2**: 274, 292, 293
 Глутаминаза **2**: 270, 271, 513
 Глутаминамидотрансфераза **2**: 517
 – ингибиторы **2**: 589
 – механизм реакции **2**: 549
 Глутаминсинтетаза **2**: 35, 270, 272,
 513–516
 – аллостерическая регуляция **1**: 329,
 330; **2**: 514, 515
 Глутаредоксин **2**: 537, 550, 551
 Глутатион **2**: 48, 326, 536, 551
 – биосинтез **2**: 536, 536
 – защита клетки от окислителей
 2: 106–108
 Глутатионпероксидаза **2**: 324, 326,
 537
 Глутатионредуктаза **2**: 324, 326
 Глюкагон
 – в мобилизации жирных кислот
 2: 228, 229, 467
 – в регуляции метаболизма глюкозы
 2: 146, 167, 170, 595, 598, 599
 – в регуляции метаболизма холесте-
 рина **2**: 491, 492
 – каскадный механизм **2**: 166
 Глюканотрансфераза **2**: 156
 Глюкогенные аминокислоты **2**: 98,
 104, 280
 Глюкоза **1**: 26, 343
 – UDP-глюкоза **2**: 16, 89
 – α -форма **1**: 344
 – β -форма **1**: 344
 – в анализе крови **1**: 348, 349
 – в дисахаридах **1**: 350, 351
 – в целлюлозе **1**: 355
 – запасные формы **1**: 353
 – гликоген **1**: 353, 354
 – крахмал **1**: 353, 354
 – и *lac*-оперон **3**: 235–245
 – использование в клетке **2**: 65
 – как восстанавливающий сахар
 1: 347
 – катаболизм **2**: 581, 582
 – в опухолевой ткани **2**: 81–83
 – метаболизм, *см. также* Брожение;
 Гликолиз; Глюконеогенез
 – в головном мозге **2**: 590, 591
 – в жировой ткани **2**: 585
 – в мышцах **2**: 587–589
 – в печени **2**: 581, 582
 – в поджелудочной железе **2**: 595,
 596
 – при голодании **2**: 598, 599, 601
 – при сахарном диабете **2**: 601, 603
 – функция адреналина **2**: 602
 – функция глюкагона **2**: 598, 599
 – функция инсулина **2**: 594, 595
 – функция кортизола **2**: 602
 – окисление **1**: 46, 347
 – выход АТФ **2**: 201, 202
 – в нейронах **2**: 590–591
 – пентозофосфатный путь
 2: 109–111
 – в клетках до углекислого газа **2**: 49
 – реакция гексокиназы **1**: 308
 – транспорт **1**: 553–556; **2**: 581
 – симпорт с Na⁺ **1**: 569, 570

- уровень в крови 2: 592, 593
- при диабете 1: 348; 2: 603
- регуляция 2: 593–604
- фосфорилирование 2: 18, 19
- эпимеры 1: 343
- Глюкозамин 1: 346
- Глюкозилцереброзид 1: 501
- Глюкозо-1-фосфат 2: 89, 157, 160
- в гликолизе 2: 165
- в синтезе крахмала 2: 426–428
- образование из галактозы 2: 89, 90
- Глюкозо-6-фосфат 1: 45, 46; 2: 98, 99, 112, 122, 158
- в гликолизе 2: 112
- в пентозофосфатном пути 2: 107, 108, 110
- в печени 2: 99, 161, 598
- в синтезе гликогена 2: 161–163
- гидролиз 2: 157
- превращение в глюкозу 2: 99, 104, 598, 599
- превращение в фруктозо-6-фосфат 2: 72
- реакция гексокиназы 1: 308, 309
- регуляция функции инсулина 2: 595
- Глюкозо-6-фосфатаза 2: 103, 128, 143
- в печени 2: 157, 158
- гидролиз глюкозо-6-фосфата 2: 158
- Глюкозо-6-фосфатдегидрогеназа (Г6ФДГ) 2: 109
- активация светом 2: 419
- недостаточность 2: 106
- Глюкозофосфатизомеразы (фосфо-глюкоизомеразы) 2: 72, 111
- Глюкозо-аланиновый цикл 2: 271
- Глюкозурия 2: 603
- Глюкокиназа 2: 60, 141, 154, 161
- дефекты 2: 355
- кинетические свойства 2: 142, 581
- регуляция 2: 142, 143
- Глюококортикоиды 2: 468, 469, 495, 574, 575
- синтез 2: 495, 496
- Глюконат 1: 346
- Глюконеогенез 2: 97–105
- в мышцах 2: 588, 589
- в печени 2: 583, 584, 589
- в прорастающих семенах 2: 436, 437
- в хлоропластах 2: 430
- глюкогенные аминокислоты 2: 104, 280
- и гликолиз 2: 99, 105
- согласованная регуляция 2: 139–153
- роль фруктозо-2,6-бисфосфата 2: 144–146
- и глиоксилатный цикл 2: 212–215
- и глицеронеогенез 2: 468, 469
- и цикл лимонной кислоты 2: 104, 105
- обходные пути 2: 99–103
- при голодании 2: 253, 598, 601
- энергетические затраты 2: 103
- Глюконолактон 1: 346
- Глюкопираноза 1: 344
- Глюкотрол 2: 597
- Глюкуронат 1: 347, 361
- Голдбергер Джозеф 2: 53
- Голдштейн Джозеф 2: 490, 491, 493
- Головной мозг
- метаболизм 2: 590, 599–601
- потребление глюкозы 2: 97, 590, 591
- Голодание
- метаболизм глюкозы 2: 599–601
- синтез кетоновых тел 2: 252, 253
- Голубой флуоресцентный белок (CFP) 1: 612–515
- Гольджи комплекс
- лектины 1: 375, 376
- сортировка белков 3: 214
- транспортные везикулы, см. Транспортные везикулы
- Гомеобокс 3: 241
- гены 3: 276
- Гомеодомен 3: 241
- Гомеостаз 2: 123
- Гомеотические гены 3: 276
- Гомогентизатдиоксигеназа 2: 287, 292
- Гомозиготы, с геном серповидных эритроцитов 1: 247, 248
- Гомолитическое расщепление ковалентной связи 2: 20, 21
- Гомологи 1: 61, 157
- Гомологическая рекомбинация 3: 81–88
- Гомоплазмия 2: 354
- Гомополисахариды 1: 352; см. также Гликоген; Крахмал; Полисахариды
- Гомоцистинурия 2: 287
- Гормон роста, у растений 1: 470; см. также Ауксины
- Гормональная регуляция
- гликогенфосфорилазы 1: 326; 2: 172
- массы тела 2: 604–614
- метаболизма жиров 2: 173, 457, 466, 469
- метаболизма углеводов 2: 144, 173, 228, 593–600
- транскрипции 1: 643, 644
- уровня глюкозы 2: 593–600
- уровня холестерина 2: 491
- экспрессии генов 3: 263, 267, 268
- Гормональный каскад 2: 570, 577
- Гормон-чувствительная липаза 2: 599, 602, 611
- Гормон-чувствительные элементы (HRE) 1: 643; 3: 267, 268
- Гормоны 2: 566–618
- адипокины 2: 605
- активация триацилглицеринов 2: 228, 229
- анализ 1: 593; 2: 567–569
- аутокринные 2: 571
- в качестве сигнальных молекул 1: 608, 609
- в пищеварении 2: 264, 265
- витамин D 2: 575
- время реакции 2: 571
- ингибирующее действие 1: 608
- каскады 2: 570, 577, 578
- катехоламины 2: 574
- классификация 2: 571, 572
- коры надпочечников 1: 509; 2: 496, 576
- механизм действия 2: 570, 571
- монооксид азота 2: 576
- открытие 2: 567–569
- паракринные 2: 571
- пептидные 2: 572
- половые 1: 509; 2: 495
- растительные 1: 470
- регуляция высвобождения 2: 576–579
- рекомбинантные 1: 479
- ретиноидные 2: 575
- рецепторы 2: 570
- связывание лектинов 1: 372
- синтез в митохондриях 2: 347, 348
- стероидные 1: 509; 2: 574
- рецепторы 3: 263, 267, 268
- синтез 2: 495, 496
- ткани-мишени 2: 577
- щитовидной железы 2: 575
- эйкозаноиды 1: 507; 2: 574
- эндокринные 2: 571
- ГОТ (глутамат-оксалоацетат-трансаминаза) 2: 269
- Гоше болезнь 1: 505
- ГПТ (глутамат-пируваттранс-аминаза) 2: 269
- Градиент концентрации 1: 550, 551, 553, 559, 567
- в поляризации мембраны 1: 633
- Граны 2: 358
- Грелин 2: 607, 613, 614
- Гринберг Дж. Роберт 2: 544

Грипп
 – методы лечения **1**: 374
 – функция лектинов **1**: 374
 Грубый экстракт **1**: 132
 Грюнберг-Манаго Марианна **3**: 142, 143
 Гуанилат **1**: 393; **2**: 544
 Гуанилилциклазы **1**: 595, 627, 628
 – и зрение **1**: 655
 Гуанилин **1**: 627
 Гуанин **1**: 399
 – дезаминирование **1**: 416; **2**: 555
 – метилирование **1**: 418, 419
 Гуаниновые нуклеотиды, регуляция биосинтеза **2**: 547
 Гуанозин **1**: 393, 400, 407
 – в сплайсинге **3**: 126, 153, 154
 Гуанозиндифосфат, см. GDP
 Гуанозинмонофосфат, см. GMP
 Гуанозинтетрафосфат (ppGpp) **1**: 427
 Гуанозинтрифосфат, см. GTP
 Губчатая энцефалопатия **1**: 217, 218
 Гулоза **1**: 342
 Гуморальный иммунитет **1**: 249

Д
 Дабсилхлорид **1**: 144
 Дальгарно Линн **3**: 196
 Дальтон (Да) **1**: 32
 Дальтон Джон **1**: 655
 Дальтонизм **1**: 655
 Дам Хенрик **1**: 512
 Дансилхлорид **1**: 144
 Двойная спираль
 – в транскрипции **3**: 106, 107
 – варианты **1**: 403–406
 – ДНК **1**: 52, 391, 403, 413
 – раскручивание **3**: 15–18
 – РНК **1**: 406, 410, 413
 – суперскрученная **3**: 15–18
 Двойной липидный слой **1**: 496
 – диффузия флип-флоп **1**: 540
 – кавеолы **1**: 546
 – латеральная диффузия **1**: 540, 541
 – расположение аминокислотных остатков белков **1**: 535
 – рафты **1**: 545
 Двугибридные системы в дрожжах **1**: 467, 468
 Двумерная ЯМР-спектроскопия **1**: 198, 199
 Двумерный электрофорез **1**: 139, 149, 463
 Двухкомпонентная сигнальная система **1**: 645–648
 Двухплазмидная система **1**: 470, 471

ДГДГ (дигалактозилдиацилглицерин) **1**: 499
 Де Дюв Кристиан **2**: 160
 Девсона–Даниелли–Робертсона модель **1**: 589
 Дегидрирование **2**: 46
 Дегидроаскорбат **1**: 191
 Дегидрогеназы **2**: 27, 46, 51
 – стереоспецифичность в использовании NAD^+ и NADP^+ **2**: 51, 52
 Дегидрогидроксизинонорлейцин **1**: 188
 7-Дегидрохолестерин **1**: 510; **2**: 575
 Деградация по Эдману **1**: 145
 Дезаминирование нуклеотидных оснований **1**: 416
 – окислительное **2**: 269
 – трансдезаминирование **2**: 270
 Дезокси-D-рибоза **1**: 340, 393, 424
 Дезокси-D-рибофураноза **1**: 393
 Дезоксиаденилат **1**: 393, 394
 Дезоксиаденозилкобаламин **2**: 240, 242, 553
 Дезоксиаденозилная группа **2**: 240, 242
 Дезоксиаденозин **1**: 393, 394
 Дезоксиаденозинмонофосфат (dAMP) **1**: 394
 Дезоксигемоглобин **1**: 206, 235, 246
 Дезоксигуанилат **1**: 393, 394
 Дезоксигуанозин **1**: 292, 294
 Дезоксигуанозинмонофосфат (dGMP) **1**: 393, 394
 Дезоксинуклеозидтрифосфаты, регуляция рибонуклеотидредуктазы **2**: 549–551
 Дезоксирибонуклеотиды **1**: 393, 394
 – рибонуклеотиды как предшественники **2**: 550
 Дезоксисахара **1**: 346
 Дезокситимидилат **1**: 393, 394
 Дезокситимидин **1**: 393, 394
 Дезокситимидинмонофосфат (dTMP) **1**: 393, 394
 Дезоксцитидилат **1**: 393, 394
 Дезоксцитидин **1**: 393, 394
 Дезоксцитидинмонофосфат (dCMP) **1**: 394
 Дейхофф Маргарет **1**: 115
 Декарбоксилирование аминокислот **2**: 538, 539
 – α -кетокислот **2**: 22
 – окислительное **2**: 182
 – с инициацией свободными радикалами **2**: 24, 25
 Дексаметазон **2**: 468
 Декстран **1**: 354, 357

Декстроза **1**: 339
 Делеция **3**: 67, 68, 168
 Денатурирующее картирование **3**: 47
 Денатурация
 – белков **1**: 184, 208–210, 271, 332
 – гибридов ДНК-РНК **1**: 414
 – ДНК **1**: 413–415
 Дендротоксин **1**: 581, 640
 Денитрификация **2**: 507–509
 Дерматансульфат **1**: 361
 Десатуразы **2**: 458, 461
 Десенсibilизация рецепторов **1**: 605, 606
 Десмин **1**: 259
 Десмозин **1**: 122, 123
 Джонсон В. А. **2**: 181, 222
 Диабет несахарный **1**: 556, 572
 Диабет сахарный
 – анализ на сахар **1**: 102, 347–349
 – ацидоз **1**: 93, 102
 – взрослого типа у молодых (MODY) **2**: 152, 153, 355
 – диагностика **1**: 348; **2**: 604
 – кетоз/кетацидоз **2**: 84, 85, 254, 603, 604
 – лечение **2**: 469, 568, 597, 617
 – инсулином **2**: 568, 569
 – производными сульфонилмочевин **2**: 597
 – метаболизм жиров **2**: 84
 – метаболизм углеводов **2**: 84
 – митохондриальные мутации **2**: 355, 356
 – нарушение синтеза жирных кислот **2**: 466
 – нарушение транспорта глюкозы и воды **1**: 556
 – патофизиология **2**: 598, 601, 603
 – редкие формы **2**: 153
 – связь с ожирением **2**: 604
 – теория «липидной нагрузки» **2**: 616
 – тип **1**: 2: 603
 – тип **2**: 603, 615, 616
 Диализ, для очистки белков **1**: 132, 165, 168
 Диастереомеры **1**: 36
 Диацилглицерин **1**: 498, 507, 610, 611
 – в синтезе триацилглицеринов **2**: 471
 Диацилглицерин-3-фосфат, в синтезе триацилглицеринов **2**: 465
 Дигалактозилдиацилглицериды (ДГДГ) **1**: 499
 Дигидриобиптеринредуктаза **2**: 292
 Дигидроксиацетон **1**: 340, 341

- Дигидроксиацетонфосфат
 – в гликолизе **2**: 67, 68
 – в глицеронеогенезе **2**: 468
 – в цикле Кальвина **2**: 415–417
 – обмен на неорганический фосфат **2**: 417, 418
 1, 25-Дигидроксихолекальциферол **1**: 510, 511; **2**: 572, 575
 Дигидролипоилдегидрогеназа **2**: 184; см. также Пируватдегидрогеназный комплекс
 Дигидролипоилтрансацилаза **2**: 184; см. также Пируватдегидрогеназный комплекс
 Дигидрофолатредуктаза **2**: 554, 558–560
 – связывание субстрата **1**: 278
 Дигидрофосфат, буферные свойства **1**: 96
 Дидезоксиинозин (DDI) **3**: 147
 Дидезокси-метод секвенирования ДНК (метод Сенгера) **1**: 420
 Дикого типа клетки **1**: 54
 Димерные хромосомы, репарация **3**: 93, 94
 Диметилаллилпирофосфат, в синтезе холестерина **2**: 482
 Диметилнитрозамин, как мутаген **1**: 418
 Динамическое стационарное состояние **1**: 40
 Динцис Говард **3**: 195
 Динциса эксперимент **3**: 195
 Динеины **1**: 257
 Динитрогеназа **2**: 511, 512
 – редуктаза **2**: 511, 512
 Диоксигеназы **2**: 459
 Диоксид углерода
 – ассимиляция **2**: 404–417
 – в C_2 -растениях **2**: 423
 – в C_4 -растениях **2**: 423–425
 – в САМ-растениях **2**: 426
 – в окислении
 –– глюкозы **2**: 49
 –– α -кетоглутарата **2**: 194
 –– пирувата **2**: 183
 –– цитрата **2**: 192
 – в фотосинтезе, см. Цикл Кальвина
 – влияние на связывание гемоглобина с кислородом **1**: 243, 244
 – круговорот **2**: 6
 – парциальное давление **1**: 100, 101
 – перенос гемоглобином **1**: 242, 243
 – растворимость в воде **1**: 79
 Дисахариды **1**: 339, 340, 348, 351
 – в составе гликозаминогликанов **1**: 359, 360
 – восстанавливающие **1**: 350
 – гидролиз до моносахаридов **1**: 86, 88
 Дистальный гистидин **1**: 232
 Дисульфидные связи, при секвенировании белка **1**: 143–145
 Дифтерии токсин **3**: 209
 Дифференцировка клеток **2**: 124
 Диффузионный предел **1**: 292
 –– растворенных веществ и размеры клетки **1**: 18
 Диффузия
 – мембранных липидов **1**: 540–543
 – облегченная **1**: 552–554, 556; см. также Переносчики
 – простая **1**: 551
 – скачкообразная **1**: 543
 – флип-флоп **1**: 540
 Дихроматы **1**: 655
 Диэлектрическая проницаемость **1**: 77
 ДНК
 – А-форма **1**: 404
 – В-форма **1**: 404; **3**: 17
 – G-тетраплекс **1**: 407
 – Z-форма **1**: 404
 – амплификация, методом ПЦР **1**: 452, 453
 – бактериальная **3**: 10, 11
 – библиотеки **1**: 449–452
 – большая и малая бороздки **1**: 401
 – в хлоропластах **3**: 12
 – в эукариотах **3**: 11–15
 – вирусная **3**: 9
 – гибридизация **1**: 443, 463, 465
 –– в клонировании **1**: 451
 –– в создании библиотек **1**: 451
 – гибриды **1**: 414, 415
 – гликозилазы, в репарации **3**: 68, 71, 72
 – двойная спираль **1**: 400
 – двухцепочечные разрывы **3**: 77, 84, 90, 97
 – денатурационное картирование **3**: 47, 92, 168
 – денатурация **1**: 413, 414
 – дрожжевая **3**: 11
 – зонды **1**: 443, 444, 454, 455
 – и гистоны **3**: 257, 258
 – клонирование **1**: 434–443
 – кольцевая **3**: 17, 44–48
 – комплементарная, см. Комплементарная ДНК
 – комплементарность нитей **1**: 402
 – линкерная, в нуклеосомах **3**: 258
 – матричная цепь **3**: 108
 – метилирование **1**: 419; **3**: 58, 68, 69
 – микроинъекции **1**: 473
 – митохондриальная **2**: 351–354; **3**: 171–173
 – мусорная **3**: 156
 – мутации **1**: 415; **3**: 67
 – нематричная (кодирующая) цепь **3**: 108
 – нуклеосомы **3**: 258
 – нуклеотидный состав **1**: 394, 395
 – однонуклеотидный полиморфизм (SNP) **1**: 460
 – отжиг **1**: 413
 – палиндром **1**: 404
 – плазмиды **1**: 439
 – повреждение **3**: 66, 67
 – повторы **3**: 56, 58, 94, 118, 145, 148, 178
 –– инвертированные **1**: 404
 –– короткие tandemные (STS) **1**: 455, 456
 – порядок зацепления **3**: 18
 – регуляторные последовательности **3**: 8
 – рекомбинантная **1**: 434
 –– применение в медицине **1**: 479
 – релаксированная **3**: 16
 – рестрикция **1**: 434–438
 –– липкие концы **1**: 436
 –– тупые концы **1**: 438
 – сателлитная **3**: 13
 – сверхспирализация **3**: 15–17
 –– и топоизомеразы **3**: 20
 –– плектонемическая **3**: 24
 –– плотность **3**: 19, 20
 –– причины **3**: 15–17
 –– раскручивание **3**: 15–17
 –– соленоидная **3**: 25
 – секвенирование **1**: 419–422, 458, 459
 – синтез, см. Репликация ДНК
 – спаривание оснований **1**: 399
 – температура плавления **1**: 403
 – типирование **1**: 454
 – топоизомеры **3**: 20
 – топология **3**: 18
 – транспозиция **3**: 81, 94
 – транспозоны **3**: 94
 – трехцепочечная **1**: 405
 – упаковка **3**: 16
 – фингерпринтинг **1**: 454
 – фосфодиэфирные связи **1**: 396
 – химический синтез **1**: 422–424
 – Чаргаффа правило **1**: 400, 401
 – человеческая **3**: 11–15
 – шпильки **1**: 405
 – элементы DUE **3**: 56, 57
 ДНКазы **3**: 48

ДНК-хеликаза II, в репарации **3**: 68, 70, 74
 ДНК-гираза **3**: 57, 61
 ДНК-зависимая РНК-полимераза **3**: 108, 109, 121
 ДНК-зависимая транскрипция **3**: 106–122; *см. также* Транскрипция ДНК
 ДНК-лигазы **1**: 434, 435; **3**: 48, 55, 62
 – в ник-трансляции **3**: 53
 – в репарации **3**: 68, 72–74
 ДНК-маркирующий сайт (STS) **1**: 450
 ДНК-микрочипы (ДНК-чипы) **1**: 463–465
 ДНК-полимеразы **1**: 272, 420, 435; **3**: 52
 – I **3**: 49, 52
 – в ник-трансляции **3**: 53
 – открытие **3**: 49
 – фрагмент Клёнова **3**: 53
 – II **3**: 52
 – III **3**: 52–55
 – в репарации **3**: 68
 – субъединицы **3**: 54, 55
 – IV **3**: 79
 – V **3**: 78
 – α , δ **3**: 64, 65
 – ϵ **3**: 65
 – η , β , ι и λ **3**: 79
 – в ник-трансляции **3**: 53
 – в репликации
 – бактерий **3**: 56–62
 – эукариот **3**: 64–66
 – вирусная **3**: 66
 – коррекция ошибок **3**: 52
 – матрица **3**: 45
 – процессивность **3**: 50
 – РНК-зависимая **3**: 144
 – 3'→5'-экзонуклеазная активность **3**: 51, 52
 – 5'→3'-экзонуклеазная активность **3**: 52, 53
 ДНК-праймазы **3**: 55, 58–60
 ДНК-репликативная система (реписома) **3**: 54
 ДНК-связывающие белки **3**: 54, 58, 111
 ДНК-связывающий домен/мотив **3**: 237–241
 ДНК-фотолиазы **3**: 68, 74, 80
 Добжанский Феодосий **1**: 54
 Додекановая кислота **1**: 488
 Додещилсульфат натрия (SDS) **1**: 136, 529
 Дойси Эдвард **1**: 152
 Долихол **1**: 513, 514, 518

Домен (группа организмов) **1**: 18, 19
 Домен (надмолекулярная структура) **1**: 154, 200, 201
 – смерти **1**: 672, 673
 Доминантная тугоухость **1**: 581
 Доноры водорода, в фотосинтезе **2**: 386
 Дофамин **2**: 538, 539
 Дочерние хромосомы **1**: 403, 660
 Дрожжи
 – двугибридная система **1**: 467, 468
 – искусственные хромосомы **1**: 442, 443
 – переключение типов спаривания **3**: 256
 – регуляция метаболизма галактозы **3**: 263, 264
 – репликация **3**: 64
 – РНК-полимераза II **3**: 118
 – секвенирование генома **1**: 459
 – тРНК аланина **3**: 184, 185
 – тРНК фенилаланина **1**: 411; **3**: 186
 – факторы спаривания **1**: 658
 – ферментация **2**: 66, 67, 69
 – хромосомы **3**: 11, 14
 – центромеры **3**: 14
 Дыхательная цепь (цепь переноса электронов) **2**: 182, 306–326
 Е
 Еноил-АЦП-редуктаза **2**: 448, 452
 Еноил-СоА-гидратаза **2**: 234, 235, 248
 Еноил-СоА-изомераза **2**: 238, 239, 248
 Енолаза **2**: 79, 128
 – каталитическая активность **1**: 309, 310
 Ж
 Жакоб Франсуа **1**: 15, 408; **3**: 234
 Жасмонат **1**: 647
 Жгутики **1**: 656, 657
 – движение **1**: 257, 645, 648, 649
 Железо
 – в протопорфирине IX **1**: 227, 228; **2**: 310
 – гемовое **1**: 194, 195, 227, 228; *см. также* Гем
 – гомеостаз **2**: 193
 – двухвалентное, окисление **2**: 44, 46, 48
 – железо-чувствительные элементы (IRE) **2**: 194
 – потребность организма **1**: 29
 – регуляторные белки (IRP) **2**: 193, 194
 Железосерные белки **2**: 309, 310
 – Риск **2**: 310

Железосерные кластеры **2**: 192, 311
 – в аконитазе **2**: 192, 193
 – реакции **2**: 370, 371
 Желтый флуоресцентный белок (YFP) **1**: 612–615
 Желудочно-кишечный тракт **2**: 264
 Желчные кислоты **1**: 504, 519; **2**: 484, 494
 Желчные пигменты, как продукт распада гема **2**: 535
 Жеттен Майк **2**: 508
 Жидко-мозаичная модель мембраны **1**: 528, 589
 Жизнь, происхождение **1**: 56, 57, 156; **3**: 172; *см. также* Эволюция
 Жирные кислоты **1**: 487–519; *см. также* Липиды
 – активация и транспорт **1**: 580; **2**: 38, 226–23
 – амфифильная природа **1**: 80
 – анализ **1**: 515–518
 – в бактериальных липополисахаридах **1**: 370
 – в восках **1**: 495
 – в глицерофосфолипидах **1**: 496–498; **2**: 464
 – в клетках *E. coli* **1**: 539
 – в пищевых жирах **1**: 494
 – в триацилглицеринах **1**: 491, 492; **2**: 464
 – активация **2**: 229
 – двойные связи **1**: 489
 – десатурация **2**: 458–461
 – как липидные якоря **1**: 536, 545
 – метаболизм
 – в головном мозге **2**: 590
 – в жировой ткани **2**: 468, 585, 586
 – в мышцах **2**: 587, 588
 – в печени **2**: 584
 – координированная регуляция синтеза и распада **2**: 244
 – при диабете **1**: 102; **2**: 84, 85
 – роль АМР-зависимой протеинкиназы **2**: 131
 – роль инсулина **2**: 150
 – у позвоночных в сравнении с другими организмами **2**: 105, 211
 – мобилизация **2**: 467, 599, 602
 – незаменимые **2**: 459
 – номенклатура **1**: 488
 – окисление **2**: 225–250
 – α **2**: 250
 – β **2**: 225, 233–236
 – в пероксисомах **2**: 245, 246
 – ферменты из разных органелл **2**: 247, 248
 – полное **2**: 232, 233

--- ω -, в эндоплазматическом ретикулуле **2**: 249
 --- ненасыщенных жирных кислот **2**: 237–239
 --- с нечетным числом атомов углерода **2**: 239
 --- регуляция **2**: 241–244
 --- ω -3 **1**: 489
 --- ω -6 **1**: 489
 --- перезертификация **1**: 517; **2**: 230
 --- полиненасыщенные **1**: 489
 --- превращение в ацил-КоА-производные **2**: 230, 231
 --- свободные **1**: 490; **2**: 229
 --- синтез **2**: 445–464
 --- в хлоропластах растений **2**: 453, 454
 --- десатурация **2**: 458, 461
 --- длинноцепочечных насыщенных жирных кислот **2**: 457
 --- регуляция **2**: 244, 455–457
 --- синтеза жирных кислот **2**: 447–453
 --- система элонгации **2**: 457
 --- эйкозаноидов **2**: 461–463
 --- температура плавления **1**: 490
 --- *транс* **1**: 489, 492, 494
 --- упаковка **1**: 490
 Жировые клетки, см. Адипоциты
 Жиры; см. также Жировая ткань;
 Триацилглицериды
 – прогорклые **1**: 493
 – производство тепла **2**: 236, 585

3

Закман Берт **1**: 575
 Закон действующих масс **2**: 17, 77, 128
 --- для определения энергетического состояния клетки **2**: 344
 Закрытая система **1**: 41
 Заменимые аминокислоты **2**: 278;
 см. также Аминокислоты
 Заместительная мутация **3**: 67
 Замечник Пол **1**: 10; **3**: 166
 Занамивир (реленза) **1**: 374
 Запасные липиды **1**: 487–495
 Запасные полисахариды **1**: 353
 Запахи, пути передачи **1**: 650–656
 Заряд аминокислоты **1**: 120, 125
 Звездчатые эндотелиоциты **2**: 580
 Зеленый флуоресцентный белок (GFP) **1**: 451, 478, 609, 612, 613–615
 Зеркальный повтор, в ДНК **1**: 406
 Зимоген **1**: 328
 Змеиный яд **1**: 522, 581

Зокор (симвастатин) **2**: 494
 Зонды
 – флуоресцентные **1**: 421, 541, 542, 609
 – ДНК/РНК **1**: 443, 444, 454, 455
 Зрение **1**: 650–656

И

Ибупрофен **2**: 462
 Ивата Соу **1**: 568
 Иглобрюх, яд **1**: 579
 Иди-Хофсти уравнение **1**: 335
 Излучение электромагнитное **2**: 359, 360
 --- повреждение ДНК **1**: 417, 418
 --- поглощение ДНК **1**: 413
 Изменение биохимической свободной энергии **1**: 274
 Изолейцин **1**: 49, 118
 – катаболизм **2**: 289
 – превращение в сукцинил-КоА **2**: 288, 289, 294
 – синтез **2**: 523, 524, 531
 Изолированная система **1**: 41
 Изомеразы **2**: 87, 109
 Изомеризация **2**: 23, 24
 Изомеры
 – геометрические **1**: 34, 35
 – конфигурационные **1**: 35
 – стереоизомеры **1**: 35, 36, 39
 Изопентенилпирофосфат, в синтезе холестерина **2**: 23, 482
 Изопрен, в синтезе холестерина **2**: 480–483
 Изопrenoиды
 – как липидные якоря **1**: 536, 537, 545
 – синтез **2**: 496, 497
 Изопропилтиогалактозид (ИПТГ) **3**: 236, 285
 Изопротеренол **1**: 67
 Изоферменты **2**: 71, 72
 Изоцитрат **2**: 192, 200, 212
 Изоцитратдегидрогеназа **2**: 192, 193, 210, 214
 Изоцитратлиаза **2**: 212
 Изoeлектрическая точка (pI) **1**: 125, 126, 137
 Изоэлектрофокусирование **1**: 137–139
 Икосаэдрическая симметрия **1**: 207
 Иматиниб (гливек) **1**: 669
 Иммунизация вирусными вакцинами **3**: 14
 Иммунитет
 – гуморальный **1**: 249
 – клеточный **1**: 249

Иммунная система **1**: 249
 --- интегрины **1**: 642
 --- клетки **1**: 249, 250
 --- клональная селекция **1**: 250, 256
 --- коррекция дефектов методами генной терапии **1**: 475–477
 --- селектины **1**: 373, 374
 --- у растений/животных **1**: 648, 649
 --- эволюция **3**: 97, 98
 Иммуноблоттинг **1**: 256
 Иммуноглобулиновая складчатость **1**: 252
 Иммуноглобулиноподобные белки **1**: 549
 Иммуноглобулины (Ig) **1**: 249, 251;
 см. также Антитела
 – A **1**: 252
 – D **1**: 252
 – E **1**: 252, 253
 – G **1**: 252–254
 – M **1**: 252
 – рекомбинация **3**: 96, 97
 Иммунодефициты
 – лечение **3**: 147
 --- генная терапия **1**: 475–477
 Иммунопреципитация, для выделения белков **1**: 467
 Иммуноферментный анализ, см. ИФА
 Импортны **3**: 216, 217
 Инактивация генов, метод анализа **1**: 461
 Инвертированные повторы ДНК **1**: 405, 406
 Ингибирование
 – кинетические методы анализа **1**: 296
 – кооперативное **2**: 529, 531
 – последовательное с отрицательной обратной связью **2**: 532
 Ингибиторный G-белок (Gi) **1**: 608
 Ингибиторы
 – бесконкурентные **1**: 295–298
 – в медицине **1**: 314–318
 – действующие по принципу обратной связи **1**: 49, 321
 – кинетические методы определения типа **1**: 296
 – конкурентные **1**: 295–298
 – неконкурентные **1**: 297
 – необратимые **1**: 298
 – обратимые **1**: 295
 – смешанные **1**: 295–298
 – суицидные **1**: 298
 Индекс гидрофобности **1**: 116, 534
 Индирубин **1**: 669
 Индолилacetат (ауксин) **1**: 470, 647

Индольное кольцо, в триптофане
1: 118, 119, 377

Индукторы 3: 235, 236

Индукция 3: 230, 235, 236

Индукцибельные гены 3: 230

Индукционное соответствие 1: 282

-- модель 1: 243

-- при связывании антигена с анти-
телом 1: 252

-- при связывании фермента с суб-
стратом 1: 278

Индукцируемый гипоксией фактор
HIF-1 2: 81, 211, 345, 346

Инициаторная последовательность
(Inr) 3: 117

Инициаторный (стартовый) кодон
3: 170, 199

Инициаторный комплекс

- бактерий 3: 196, 198

- эукариот 3: 198, 199

Инициация трансляции 3: 195–198

Инман Росс 3: 47

Инозин 1: 395; 3: 176

Инозинат (IMP) 2: 545–547

- в антикодонах 3: 174, 185

Инозит, в синтезе липидов 2: 474

Инозит-1,4,5-трифосфат (IP₃) 1: 507,
610, 611

Инсерционные мутации 3: 67

Инсерционные последовательности
(IS) 3: 94

Инсулин 1: 143; 2: 572

- аминокислотная последователь-
ность 1: 143, 168, 169

- в метаболизме

--- жиров 2: 244

--- углеводов 2: 84, 137, 146, 170

--- холестерина 2: 84, 492

- в регуляции массы тела 2: 607–614

- в сигнальных путях 1: 619–622,
624, 625

- в синтезе

--- гликогена 2: 137, 168, 170, 171

--- триацилглицеринов 2: 466

- как пептидный гормон 2: 572

- нечувствительность 2: 469, 612,
615

- открытие 2: 568, 569

- отсутствие при нарушении окис-
лительного фосфорилирования
2: 356

- при диабете 2: 348, 349, 556; 2: 84,
85, 153, 603

- регуляция уровня глюкозы 1: 556,
557; 2: 85, 593–596

- регуляция экспрессии 1: 621; 2: 149

- рецептор 1: 170, 619, 624, 626

-- субстрат-1 1: 619

-- тирозинкиназная активность
1: 619, 620, 624

- сигнальная последовательность
2: 572

- синтез 2: 572, 573

Инсулиннезависимый сахарный диа-
бет 2: 612, 615

Инсулинозависимый сахарный диа-
бет, см. Сахарный диабет I типа

Интеграза 1: 317, 474; 3: 91–93, 145

Интегральные мембранные белки
1: 531–533

Интегрины 1: 367, 549, 641, 642

Интермедиат (промежуточное со-
единение) 1: 275

Интерференция РНК 3: 270

Интроны 3: 12, 122, 123

- сплайсинг 3: 125–129, 131, 133, 139,
140, 148

Инфаркт миокарда 1: 140, 141

Информационная РНК, см. мРНК

Информационные макромолекулы
1: 33, 391

-- сахара 1: 363, 371

Ион гидроксония 1: 89

Ионизация

- аминокислот 1: 119, 124

- воды 1: 89

- зависимость от pH 1: 96

- кислот 1: 98

- константа равновесия 1: 89, 94

- пептидов 1: 128, 299

Ионизирующая радиация, поврежде-
ние ДНК 1: 417, 418

Ионная помпа, см. АТРАЗы; Пере-
носчики

Ионное произведение воды (K_w)
1: 91

Ионные взаимодействия 1: 77, 78; см.
также Слабые взаимодействия

-- и стабильность белков 1: 96, 173,
174, 235, 236

Ионные каналы 1: 553, 573, 595, 633

-- α -спирального типа 1: 638

-- Ca²⁺ 1: 561, 611, 618, 635

--- дефекты 1: 581

-- Cl⁻ 1: 633–635, 639

--- при кистозном фиброзе 1: 565,
566

-- K⁺ 1: 536, 575–578; см. также
Калиевые каналы

--- дефекты 1: 581

--- в сигнальных путях 1: 635

-- Na⁺ 1: 635

--- дефекты 1: 579, 581

--- в сигнальных путях 1: 635, 637

-- анализ функции 1: 574

-- ацетилхолиновый рецептор 1: 638

-- в нейронах 1: 639

-- действие токсинов 1: 579, 602

-- лигандзависимые 1: 574, 579, 636

-- отличие от переносчиков 1: 574

-- потенциалзависимые 1: 574, 578,
579, 636

Ионообменная хроматография
1: 132, 133

Ионофоры 1: 550, 570

Ионы водорода, концентрация 1: 89,
96; см. также pH

-- градиент 1: 567

-- как внутриклеточные мессендже-
ры 1: 633

-- концентрация в цитозоле/внекле-
точной жидкости 1: 634, 635

-- содержание в крови 2: 591, 592

Иринотекан 3: 25

Искусственные хромосомы 1: 439,
442, 443; 3: 15

-- бактериальные 1: 439, 442

-- дрожжевые 1: 442, 443; 3: 15

-- человеческие 3: 15

ИФА (ELISA) 1: 255, 256; 2: 570

Ишемия, гидролиз АТФ 2: 344, 345

К

Кавеолы 1: 545, 546, 632

Кавеолы 1: 545, 546, 609, 632

Казеинкиназа II 2: 168

Кайзер Дейл 1: 438

Калиевые каналы 1: 575–578, 635

-- АТФ-зависимые 2: 597

-- в метаболизме глюкозы 2: 595,
596

-- дефекты 1: 581

-- структура 1: 575–578

Калий

- концентрация в клетке 1: 634

- транспорт с помощью Na⁺/K⁺-
АТРАЗы 1: 562

- уровень в крови 2: 591, 592

Калнексин 1: 376

Кальвин Мелвин 2: 403–406

Кальвина цикл 2: 404, 407

-- реакции фиксации углерода
2: 406–407

-- рубиско 2: 407–413

-- стехиометрия 2: 415

-- участие АТФ 2: 415

-- участие NADPH 2: 415

Кальмодулин 1: 614–616

Кальретикулин 1: 376

- Кальций
– в зрительной функции **1**: 651, 659
– в мышечном сокращении **1**: 261
– регуляция **2**: 576
– содержание в крови **2**: 592
- Кальцитонин
– альтернативный процессинг гена **3**: 131, 132
- Кальцитриол **2**: 576
- Каннабиноиды **1**: 622
- Капсид вируса, симметрия **1**: 207
- Карбаминогемоглобин **1**: 244
- Карбамоилглутамат **2**: 279
- Карбамоилфосфат, образование **2**: 547, 548
- Карбамоилфосфатсинтетаза
– I **2**: 273, 275, 277, 287, 548
– недостаточность **2**: 279
– II **2**: 548, 549
- Карбанион **2**: 21–23, 95, 111, 198
- Карбоангидраза **1**: 105, 242, 336
- Карбокатион **2**: 21–23
- Карбоксибиотин **2**: 100, 101
- Карбоксигемоглобин **1**: 240
- γ -Карбоксиглутамат **1**: 123
- Карбоксипептидаза
– A **2**: 264
– B **2**: 264
- Карбонаты, переходное состояние при гидролизе **1**: 307
- Карбонильная группа **2**: 22–24
- Карбоновые кислоты **1**: 31, 32; **2**: 181
- Карвон, стереоизомеры **1**: 39
- Кардиолипин **1**: 498, 527; **2**: 321
– синтез **2**: 472, 474
- Карнитин **2**: 230
- Карнитинацилтрансфераза I/II **2**: 230–232, 610
- Карнитиновый переносчик **2**: 230–232
- Карнубский воск **1**: 495
- β -Каротин **1**: 511, 512, 652; **2**: 362
- Каротиноиды **2**: 361
- Картирование
– *E. coli* **3**: 44
– геномов **1**: 451, 458
– денатурацией **3**: 47
- Карутерс Марвин **1**: 423
- Каспазы, в апоптозе **1**: 672, 673; **2**: 350
- Катаболизм **1**: 48, 49; **2**: 7–9, 69, 581
– аминокислот **2**: 261–272, 280–298
– белков, жиров и углеводов при клеточном дыхании **2**: 181, 182
– глюкозы, в опухолевых тканях **2**: 81–83
– жирных кислот **2**: 226–250
– пиримидинов **2**: 556, 557
– пуринов **2**: 555, 556
- Каталаза **2**: 146, 246, 247
- Катализ
– в движении липидов через двойной слой **1**: 540, 541
– вращательный **2**: 306
– ионами металла **1**: 284
– кислотно-основной **1**: 283, 284
– ковалентный **1**: 284
– регуляторные ферменты **1**: 319, 320
– специфичность **1**: 281
- Каталитическая константа (число оборотов) (k_{cat}) **1**: 291
- Каталитическая триада **1**: 303
- Каталитические антитела **1**: 250, 307, 308
- Катенаны **3**: 63
- Катехоламины **2**: 358, 359, 574
- Катионообменная хроматография **1**: 132, 133
- Качающегося банана модель **1**: 568
- Качающиеся пары нуклеотидов **3**: 174, 175
- Кашалот, запасные жиры **1**: 493
- Квант **2**: 359, 360
- кДНК (комплементарная ДНК) **1**: 451
– библиотеки **1**: 450
– клонирование **3**: 156, 192
- Келер Георг **1**: 254
- Кендрю Джон **1**: 171, 194, 197, 205
- Кеннеди Юджин **2**: 188, 230, 306, 472
- Кератансульфат **1**: 360, 367
- α -Кератин **1**: 177, 178, 185, 186
- Кернс Джон **3**: 46
- Кетали **1**: 343
- Кетоацидоз, при диабете **2**: 84, 85, 604
- Кетоацидурия (болезнь кленового сиропа) **2**: 287
- β -Кетоацил-АССР-редуктаза **2**: 448, 452
- β -Кетоацил-АССР-синтаза **2**: 448, 450
- β -Кетоацил-СоА **2**: 234, 235
- β -Кетоацил-СоА-трансфераза **1**: 425; **2**: 253
- Кетогексозы **1**: 343, 344
- Кетогенные аминокислоты **2**: 105, 280, 281
- α -Кетоглутарат (оксоглутарат) **1**: 190, 191; **2**: 104, 188, 193, 199, 200
– в малат-кетоглутаратной транспортной системе **2**: 341, 324
– в метаболизме глюкогенных аминокислот **2**: 104, 280, 292, 293
– образование из изокитрата **2**: 192, 201
- окисление до сукцинил-СоА **2**: 194, 201
– перенос α -аминогруппы **2**: 266
- α -Кетоглутаратдегидрогеназа **2**: 194, 195, 210
- Кетоз **2**: 204, 466, 603
- Кетозы **1**: 341
– D- и L-изомеры **1**: 341
- Кетокислоты
– α , дегидрогеназный комплекс **2**: 296
– β , декарбоксилирование **2**: 22
- Кетоновые тела **2**: 251–253
– в печени **2**: 580, 584
– образование из аминокислот **2**: 280
– при голодании **2**: 598, 601
– при диабете **2**: 253, 254, 466, 603
– при мышечном сокращении **2**: 587–589
- Кетоны **1**: 31, 340, 343; **2**: 251
- Килби Б. А. **1**: 302
- Киназы **2**: 26, 197; *см. также* Протеинкиназы
– казеинкиназа **2**: 168
– креатинкиназа **2**: 41, 141, 588
– пируваткиназа **2**: 79, 128, 148
– триозокиназа **2**: 89
– фосфоглицераткиназа **2**: 77
– фосфорилазы β **1**: 325, 604, 605; **2**: 166
- Кинезины **1**: 257
- Кинетика **1**: 47
– Михаэлиса–Ментен **1**: 287, 289, 290; **2**: 126, 135, 136
– стационарная **1**: 287, 288
– предстационарная **1**: 294, 302
– ферментативных реакций **1**: 285
- Кинетопласт **3**: 12
- Кислород
– круговорот **2**: 6
– парциальное давление **1**: 232
– растворимость в воде **1**: 79
– связывание с гемоглобином **1**: 235–238
– транспорт в крови **2**: 591, 592
- Кислородобразующий комплекс **2**: 380
- Кислородсвязывающие белки **1**: 228
- Кислотно-основное титрование **1**: 123, 124
- Кислотно-основной катализ
– общий **1**: 283, 284
– специфический **1**: 283, 284
- Кислотно-основные пары **1**: 93, 94
– как буферные системы **1**: 96, 97

- Кислоты
 – аминокислоты **1**: 116, 125
 – в качестве буферов **1**: 97–99
 – константа диссоциации **1**: 94–97
 – кривая титрования **1**: 95
 – сильные **1**: 94–97
 – слабые **1**: 94–97
 – Хендерсона–Хассельбалха уравнение **1**: 98
 Кислые сахара **1**: 346
 Кистозный фиброз
 – дефекты ионных каналов **1**: 565
 – нарушение фолдинга белка **1**: 215, 217
 Клавулановая кислота **1**: 316, 317
 Кларк А. Р. **1**: 337, 338
 Кларк Джон **2**: 225
 Кленового сиропа болезнь **2**: 287, 297
 Клетки **1**: 17
 – бактериальные **1**: 20, 21, 33
 – киллеры (цитотоксические Т-клетки) **1**: 249, 250
 – Лангерганса **2**: 595
 – основные химические компоненты **1**: 26, 32
 – поджелудочной железы
 –– α **2**: 595
 –– β **2**: 568, 573, 595, 596, 603, 617
 – размер **1**: 18
 – структура **1**: 17, 18
 – эукариотические **1**: 22–24
 Клеточная оболочка **1**: 20, 21
 Клеточная смерть программируемая, см. Апоптоз
 Клеточная стенка, синтез полисахаридов **2**: 431–433
 Клеточное дыхание **2**: 181, 182
 – альтернативные пути в растениях **2**: 420
 – перенос электронов в митохондриях **2**: 327–329
 Клеточный иммунитет **1**: 249;
 см. также Иммунная система
 Клеточный цикл
 – мейоз **3**: 82
 – регуляция **1**: 664, 665
 – роль циклинзависимых протеинкиназ **1**: 664
 – стадии **1**: 660
 – хромосомные изменения **3**: 27
 Клёнова фрагмент **3**: 53
 Клод Альбер **1**: 24
 Клон **1**: 254, 434
 Клональная селекция **1**: 250, 256
 Клонирование **1**: 434–448
 – белковые тэги для хроматографии **1**: 447
 – в бактериях **1**: 434–448
 – в животных **1**: 473, 475, 479
 – в растениях **1**: 469–473
 – векторы, см. Клонирование векторы
 – гибридизация **1**: 443
 – ДНК-лигазы **1**: 434; **3**: 55, 62
 – кДНК **1**: 450; **3**: 156 – 158
 – линкеры/полилинкеры **1**: 438
 – микроинъекция **1**: 473
 – мутагенез **1**: 446
 – получение большого количества белка **1**: 444
 – ПЦР **1**: 452, 453
 – рестриктазы **1**: 434, 436, 437
 – слитые белки **1**: 447
 – трансформация **1**: 449, 470, 473, 476, 477
 – ферменты **1**: 435
 – флуоресцентных маркеров **1**: 612
 – электропорация **1**: 439
 Клонирование векторы **1**: 434, 435, 437–440
 – бактериофаги **1**: 441
 – вирусные **1**: 473, 474
 – для растений **1**: 469–472
 – искусственные бактериальные хромосомы **1**: 439, 441, 442
 – искусственные дрожжевые хромосомы **1**: 442, 443
 – плазмиды **1**: 434, 439, 440
 –– Ti **1**: 469, 470
 –– ретровирусные **1**: 473, 474
 –– фаг λ **1**: 441; **3**: 92, 93, 285
 –– шаттлы **1**: 443
 –– экспрессирующие **1**: 444, 445
 Клубеньки, фиксация азота **2**: 510, 512, 513
 Кляйзена конденсация **2**: 22, 23
 Коагуляция
 – протеолиз **1**: 329
 – роль селектинов **1**: 373, 374
 Коактиваторы **3**: 260–262
 Кобаламин, см. Витамин B₁₂
 Кобротоксин **1**: 581, 640
 Ковалентная связь **1**: 27, 29, 75, 82, 114, 172
 – в соединениях фосфора **2**: 35
 – в ферментативных реакциях **1**: 277, 284
 – гетеролитическое расщепление **2**: 20, 21
 – гомолитическое расщепление **2**: 20, 21
 Ковалентные модификации регуляторных ферментов **1**: 319, 323–328; **2**: 127, 515, 516
 Ковалентный катализ **1**: 283, 284
 Когеины **3**: 36
 Кодированная цепь ДНК **3**: 108, 109
 Кодоны **1**: 445, 483; **3**: 167–180, 191–204
 Коинтеграция **3**: 95
 Коклюшный токсин **1**: 602
 Колбочки **1**: 650–656
 Коллаген **1**: 187, 188
 – аминокислотный состав **1**: 187
 – и аскорбиновая кислота **1**: 189–191
 – и протеогликаны **1**: 367
 – нарушения структуры **1**: 191, 192
 Коллигативные свойства **1**: 84
 Коллинз Френсис **1**: 457, 458
 Коллип Дж. Б. **2**: 568
 Колоночная хроматография **1**: 132, 133
 Кольцевая ДНК **3**: 44–48
 Кольцевые липиды **1**: 534
 Компактин **2**: 494
 Комплекс
 – I (NADH/убихинон) **2**: 313, 314, 322
 – II (сукцинат/убихинон) **2**: 313, 316, 322
 – III (убихинон/цитохром c) **2**: 313, 317, 318, 321, 322
 – IV (цитохром c/O₂) **2**: 313, 318, 320–322
 – лиганда с рецептором **1**: 592–594
 – транслокации **3**: 212, 218
 – фермент-субстратный, см. Фермент-субстратный комплекс
 Комплементарная ДНК (кДНК) **1**: 451; **3**: 146
 – библиотеки **1**: 451; **3**: 156–158
 – для гибридизации **1**: 463, 465; **3**: 158
 Конденсация **1**: 104, 272, 510
 – при образовании пептидной связи **1**: 127
 – сложноэфирная (Кляйзена) **2**: 22, 23
 – хромосом **3**: 36
 Конденсины **3**: 36
 Конкурентный ингибитор **1**: 295–298
 Консенсусные последовательности **1**: 155, 156
 – oriC **3**: 56
 – промоторов **3**: 231, 232, 244
 – узнаваемые протеинкиназами **1**: 325, 327, 603, 615
 Консенсусное древо жизни **1**: 19
 Константа
 – ассоциации (K_a) **1**: 229
 – в анализе по Скэтчгарду **1**: 593

- Больцмана (k) 2: 13
- диссоциации комплекса (K_d)
- антигена с антителом 1: 253
- лиганда с рецептором 1: 231, 592, 593
- фермента с субстратом 1: 290
- кислотной диссоциации (K_a) 1: 93, 94
- Михаэлиса (K_M) 1: 288, 290, 291
- кажущаяся 1: 295, 296
- равновесия (K_{eq}) 1: 276
- скорости (k) 1: 229, 276, 277
- Конститутивная экспрессия 3: 230
- Континги 1: 449, 458
- Конфигурация 1: 345
- Конформация
- α 1: 181, 187, 192, 200–202
- небольших глобулярных белков 1: 199
- ванна 1: 354
- и конфигурация 1: 354
- кресло 1: 345
- нативная 1: 53
- Кооперативное ингибирование 2: 530
- Кооперативное связывание 1: 237–239, 242–244
- Корана Х. Гобинд 1: 423; 3: 170
- Кори (Форбса) болезнь 2: 159
- Кори Герт 2: 92, 121, 159, 160, 165
- Кори Карл 2: 92, 121, 159, 160, 165
- Кори Роберт 1: 35, 174, 177, 181, 186
- Корнберг Артур 2: 160; 3: 49
- Корнберг Ханс 2: 212
- Корнфорт Джон 2: 484
- Коровьего бешенства болезнь, см. Бычья губчатая энцефалопатия
- Коронарный тромбоз 1: 512, 628; 2: 493, 495, 590
- Корончатый галл 1: 470
- Короткие tandemные повторы (STR) 1: 455
- Корректирующая активность
- в репликации 3: 50–52
- в транскрипции 3: 110, 146
- в трансляции 3: 188, 189
- Корриновая кольцевая система 2: 240
- Кортизол 1: 509; 2: 468, 576, 578
- в метаболизме глюкозы 2: 602, 603
- Кортикостероиды 1: 509; 2: 468, 574, 602, см. также Стероидные гормоны
- синтез 2: 495
- Котранспортные системы 1: 556, 558, 562, 567
- Кофакторы
- ферментов 1: 271
- нитрогеназного комплекса 2: 510–512
- Кофериенты 1: 271; 2: 201, 281
- А (CoA) 1: 271, 426; 2: 183, 184
- B_{12} 2: 240, 242, 284
- NAD^+ и $NADP^+$ 1: 426
- стереоспецифичность дегидрогеназ 2: 50
- Q (убихинон) 1: 512, 513 2: 309, 314, 322
- биотин 2: 100, 101
- в пируватдегидрогеназном комплексе 2: 183, 184
- как универсальные переносчики электронов 2: 49, 307, 460
- липовая кислота 2: 183
- пиридоксальфосфат 2: 266, 267
- простетические группы 1: 271
- тиаминпирофосфат 2: 94, 95
- флавиннуклеотиды 2: 426
- Кошланд Даниэль 1: 242, 282
- Коэн Стенли 1: 433
- Коэффициент
- специфичности (k_{cat}/K_M) 1: 292
- эластичности (ϵ) 2: 134–136
- Красные кровяные клетки, см. Эритроциты
- Красные мышечные волокна 2: 587
- синдром МЭРКМВ 2: 355
- Крахмал 1: 353–358
- биосинтез 2: 426–428
- в амилопластах 2: 405, 406
- расщепление 2: 86–88
- фосфоорилаза 2: 87
- Крахмалсинтаза 2: 427, 428
- Креатин 2: 536, 537
- в мышечном сокращении 2: 588, 589
- Креатинкиназа 2: 588, 589
- Кребс Ханс 2: 83, 181, 182, 222, 223, 261, 273
- Кребс Эдвин 2: 160
- Кребса бицикл 2: 275, 276
- Кребса цикл (цикл трикарбоновых кислот, цикл лимонной кислоты) 2: 181, 182, 188–207
- Крейцфельда–Якоба болезнь 1: 217, 218
- Крестоносцы 1: 189
- Крестообразные структуры, ДНК 1: 406
- Крик Френсис 1: 9, 398–403; 3: 45, 50, 152, 167, 174
- Криптохромы 2: 55
- Кровь
- pH 1: 92, 93, 102
- буферные свойства 1: 98–101
- группы, роль сфинголипидов 1: 503
- липопотеины 2: 485–488
- метаболические функции 2: 591, 592
- перенос аммиака 2: 270
- перенос кислорода 1: 228–233
- плазма 1: 86; 2: 591, 592
- содержание глюкозы 1: 553–556; 2: 592
- состав 2: 591
- транспортные функции 2: 591, 592
- электролиты 2: 591
- Крокодилы 2: 92
- Кроссинговер 3: 83
- Круговой дихроизм 1: 590
- Кручение (ДНК) 3: 20
- Ксантин 1: 395; 2: 555
- Ксантиноксидаза 2: 555, 557
- Ксенобиотики 2: 349
- Ксилулоза 1: 108, 364
- Ксилулоза 1: 342
- Ксилулозо-5-фосфат 2: 81, 82, 109, 111
- в регуляции метаболизма углеводов и жиров 2: 146, 150, 151
- в цикле Кальвина 2: 412, 413
- Куенен Гиж 2: 508
- Культура ткани 1: 473
- Кунитц Мозес 1: 270
- Кэбак Рон 1: 568
- 5'-Кэп 3: 123
- 5'-Кэп-связывающий комплекс 3: 123, 124
- Кюне Фредерик 1: 270
- Л**
- Лавуазье Антуан 2: 11, 12
- Ладдераны 2: 508, 509
- Лазерная десорбционноионизационная масс-спектрометрия (MALDI) 1: 149
- Лайнуивера–Берка уравнение 1: 289
- Лактальбумин 1: 369
- β -Лактамаза 1: 316, 317
- β -Лактамные антибиотики, устойчивость бактерий 1: 314–316; 3: 10
- Лактат 2: 27, 300, 386
- в синтезе глюкозы 2: 102
- в сокращении мышц 2: 118, 588, 589
- Лактатдегидрогеназа (ЛДГ) 1: 333, 337; 2: 27, 52, 91
- изоформы 2: 140, 141
- Лактовегетарианцы 2: 301
- Лактоза 1: 348, 351; 2: 86, 88
- lac-оперон 3: 235–245
- непереносимость 2: 88
- переносчик (лактопермеаза) 1: 567, 568, 588

- Лактозилцерамид **1**: 501
 Лактоназа **2**: 109
 Лактоны **1**: 346, 347
 Лактопермеаза **1**: 567, 568, 588
 Ламберта–Бера закон **1**: 121
 Ламеллы **2**: 358, 378
 Ланолин **1**: 495
 Ланостерин **2**: 484
 Латеральная диффузия **1**: 540–543
 Латеральный (горизонтальный) перенос генов **1**: 157
 Лауриновая кислота **1**: 488
 ЛДГ, см. Лактатдегидрогеназа
 Леви тельца **1**: 217
 Левингаль Сайрус **1**: 210
 Леггемоглобин **2**: 512, 513
 Легкие цепи
 -- иммуноглобулина **1**: 251; **3**: 96
 -- миозина **1**: 257
 Ледер Филипп **3**: 169
 Лейкотриены **1**: 507, 508; **2**: 463, 574;
 см. также Эйкозаноиды
 Лейкоциты **1**: 249, 250, 475; **2**: 592
 Лейцин **1**: 116, 119; **2**: 105, 278, 518
 -- биосинтез **2**: 523, 524
 -- катаболизм **2**: 280, 281, 288, 296
 -- нарушения **2**: 287, 297
 Лейциновая молния (застежка)
3: 241, 242
 Лекарства
 -- вклад геномики и протеомики в создание **1**: 478–480
 -- метаболизм, роль цитохрома P-450 **2**: 349, 460
 Лекарственная устойчивость
 -- роль ABC-транспортёров **1**: 564–566
 -- роль плазмид **3**: 10
 Лектины **1**: 372–378
 Лелуар Луис **2**: 158, 160
 Ленинджер Альберт **2**: 188, 230, 306
 Лептин **2**: 605, 606, 608–610
 -- рецептор **2**: 606
 Лернер Ричард **1**: 308
 Летсингер Роберт **1**: 423
 Лецитин, см. Фосфатидилхолин
 Лецитин-холестеринацилтрансфераза (LCAT) **2**: 489
 Лёша–Нихена синдром **2**: 557
 Лиазы **2**: 197
 Лигаза **1**: 197
 Лигандзависимые каналы
1: 574–579
 -- в передаче сигнала **1**: 634–640
 Лиганды **1**: 135
 -- в иммунных реакциях **1**: 249–254
 -- взаимодействие с рецепторами **1**: 592, 593
 -- количественный анализ **1**: 592–594
 -- связывание с белками **1**: 225–248
 -- кооперативное **1**: 237–242
 Лигнин **2**: 538
 Лигноцеровая кислота **1**: 488
 Лидирующая цепь **3**: 48
 Лизин **1**: 115–117
 -- биосинтез **2**: 518, 523, 524, 531
 -- карбамоилирование **2**: 407
 -- катаболизм **2**: 280, 288
 Лизолецитин **2**: 489
 Лизосомы
 -- в заместительной терапии **1**: 375
 -- мечение белков для доставки **1**: 375, 378; **3**: 210, 214, 220
 -- ферменты **1**: 503, 505
 Лизофосфолипазы **1**: 504
 Лизоцим **1**: 129, 139, 200, 272
 -- каталитическая активность **1**: 310–313
 -- структура **1**: 311
 Ликсоза **1**: 342
 Лимфоциты **1**: 249, 250
 -- В **1**: 249, 250, 252; **2**: 592
 -- рекомбинация **3**: 97
 -- Т **1**: 249, 250
 -- и селектины **1**: 373
 -- при иммунодефицитах **2**: 556
 -- хоминг **1**: 373, 374
 Линд Джеймс **1**: 189
 Линен Феодор **2**: 484
 Линия М (М-диск) **1**: 259
 Линкер **1**: 437, 438
 Линоеат **2**: 458, 459, 461
 -- синтез **2**: 459
 Линоевая кислота **1**: 499, 521; **2**: 238
 Линоленат **2**: 458, 459, 461
 Линоленовая кислота **1**: 489, 521
 Липазы **1**: 379, 491
 -- гормон-чувствительная **1**: 605; **2**: 229, 599
 Липидная гипотеза **2**: 493, 494
 Липидные якоря **1**: 536, 537
 -- и рафты **1**: 543, 545
 Липидный слой, см. Двойной липидный слой
 Липидом **1**: 519
 Липидомика **1**: 517
 Липиды **1**: 33, 487, 496–517, см. также Воски; Гликолипиды; Глицерофосфолипиды; Жирные кислоты; Липополисахариды; Сфинголипиды; Фосфолипиды
 -- архей **1**: 500
 -- биосинтез
 -- глицеронеогенез **2**: 468
 -- мембранных фосфолипидов **2**: 470–476
 -- плазмалогенов **2**: 476, 477
 -- стероидов в митохондриях **2**: 348, 349
 -- сфинголипидов **2**: 476–478
 -- триацилглицеринов **2**: 464–467
 -- функция инсулина **2**: 466
 -- холестерина, стероидов и изопrenoидов **2**: 479–484, 497
 --- регуляция **2**: 491–493
 -- эфиров холестерина **2**: 485
 -- эйкозаноидов **2**: 461–463
 -- выделение **1**: 515, 516
 -- галактолипиды тилакоидных мембран **1**: 499, 500
 -- ганглиозиды **1**: 369
 -- гидролиз **1**: 517
 -- запасные **1**: 487, 496
 -- запасы организма **2**: 600
 -- как окислительно-восстановительные кофакторы **1**: 512
 -- как пигменты **1**: 514
 -- как сигнальные вещества **1**: 507–512
 -- кольцевые **1**: 533, 534
 -- мембранные **1**: 26, 369, 370, 496–506
 -- болезни накопления **1**: 505
 -- микродомены **1**: 543, 545
 -- рафты **1**: 543, 545
 -- у разных организмов **1**: 526, 527
 -- метаболизм
 -- в жировой ткани **2**: 228, 229, 468, 585–587
 -- в печени **2**: 584, 585, 594
 -- внутриклеточная локализация **2**: 454
 -- и ожирение **2**: 605–614
 -- функция адреналина **2**: 602
 -- функция кортизола **2**: 602
 -- функция ксилулозо-5-фосфата **2**: 146, 147
 -- методы анализа **1**: 515–517
 -- основные категории **1**: 519
 -- перемещение через двойной липидный слой **1**: 540, 541, 543
 -- измерение скорости **1**: 542
 -- пищевые, всасывание **2**: 226, 227
 -- плазмалогены **1**: 498, 499
 -- при зимней спячке у животных **2**: 236
 -- различные функции **1**: 513
 -- разрушение в лизосомах **1**: 503

- расщепление, мобилизация и транспорт 2: 226
- связывание с мембранными белками 1: 536, 537
- стерины 1: 504
- структурные, см. Липиды мембранные
- транспорт 2: 485–489
- Липкие концы 1: 437, 438
- Липоапоптоз 2: 616
- Липоат (липоевая кислота) 2: 183–186, 207
- Липоиллизинсовая группа 2: 184, 186, 187
- Липополисахариды 1: 370, 649; см. также Полисахариды
- Липопроteinлипаза 2: 228
- Липопroteinовых субъединиц модель (модель Бенсона) 1: 589
- Липопroteinны 2: 485–490
- высокой плотности (ЛПВП) 2: 488–491
- классификация 2: 486
- низкой плотности (ЛПНП) 2: 486–491
- очень низкой плотности (ЛПОНП) 2: 486–491
- простетические группы 1: 131
- транспорт 2: 485
- хиломикроны 2: 227, 228
- Липосомы 1: 529
- в клонировании животных 1: 473
- Литотрофы 1: 20
- Ли-Фраументи раковый синдром 1: 671
- Лобан Петер 1: 438
- Ловастатин (мевакор) 2: 494
- Лондона (Ван-дер-Ваальса) силы 1: 82
- ЛПВП, см. Липопroteinны высокой плотности
- ЛПНП, см. Липопroteinны низкой плотности
- ЛПОНП, см. Липопroteinны очень низкой плотности
- Лютеин 2: 361–363
- Лютеинизирующий гормон 1: 369
- Люцифер желтый 2: 63
- Люцифераза, в генетических экспериментах 1: 471, 472
- Люциферин 2: 39

М

- Магния ионы
 - в комплексе с АТФ 2: 27, 28, 30
 - в цикле Кальвина 2: 405, 408, 418
- Мак-Ардря болезнь 2: 159

- Маккарти Маклин 1: 400
- Маккинсон Родерик 1: 575
- Макклиток Барбара 3: 81
- Маклеод Дж. Дж. Р. 2: 568
- Маклеод Колин 1: 400
- Макромолекулы 1: 32
 - информационные 1: 33
 - слабые взаимодействия 1: 82, 83
 - энергия для сборки 2: 40
- Макрофаги 1: 249, 250
- Макроциты 2: 284
- Максам Алам 1: 419, 420
- Максама–Гильберта метод секвенирования 1: 420
- Максимальная скорость ($V_{\max}$) 1: 286, 288, 289
- Макэлрой Уильям 2: 39
- Малат 2: 101, 198, 199
 - окисление до оксалоацетата 2: 199
 - транспорт 2: 340, 455, 456
- Малат- α -кетоглутаратная система 2: 341, 455, 456
- Малат-аспартатный челнок 2: 340, 341
- Малатдегидрогеназа 2: 199, 425, 454, 455
 - синтез NADPH 2: 454, 455
- Малатсинтаза 2: 212
- Малая бороздка 1: 401
- Малеиновая кислота (малеат) 1: 34; 2: 199
- Малик-фермент, см. Малатдегидрогеназа
- Маллис Кэри 1: 10, 452
- Малонил/ацетил-СoA-АCP-трансфераза 2: 450, 451
- Малонил-СoA 2: 241, 242, 244, 611
 - в синтезе жирных кислот 2: 447–463
 - синтез 2: 446
- Малые РНК
 - временные (мвРНК) 3: 270
 - интерферирующие (миРНК) 3: 270
 - ядерные (мяРНК) 3: 127, 128, 138, 157
 - ядрышковые (мякРНК) 3: 135, 136, 157
- Мальтоза 1: 350, 351
- Мальтозосвязывающий белок 1: 447
- Мальтопорин 1: 536, 357
- Малярия, и серповидно-клеточная анемия 1: 248
- Манноза 1: 343
 - окисление 1: 347
- Маннозамин 1: 345
- Маннозо-6-фосфат 1: 375
- рецептор 1: 378

- Маннозосвязывающий белок 1: 372
- Марихуана 1: 622
- Маршалл Барри 1: 374
- Масса тела, регуляция 2: 604–614
 - PPAR 2: 612, 613
 - адипонектином 2: 610–617
 - грелином 2: 607, 613, 614
 - инсулином 2: 609–612
 - лептином 2: 605–610
 - термогенином 2: 606, 609
 - теория «липидной нагрузки» 2: 615–617
 - функция гипоталамуса 2: 131, 605–614
- Масс-спектрометрия 1: 32, 149–151
 - MALDI 1: 149, 381
 - в анализе
 - аминокислотной последовательности 1: 148, 149
 - липидов 1: 517, 518
 - сахаров 1: 380, 381
 - тандемная 1: 150, 151
 - электроспрей 1: 149
- Материнская мРНК 3: 273
- Материнские гены 3: 273
- Матричная цепь
 - в репликации ДНК 3: 49
 - в репликации РНК 3: 144, 154
 - в транскрипции 3: 108
- Матричная РНК, см. мРНК
- Маттеи Генрих 3: 167
- МГДГ (моноголактозилдиацилглицерин) 1: 499
- Мевакор (ловастатин) 2: 494
- Мевалонат 2: 494
 - в синтезе холестерина 2: 480, 481
- Мегалобластная анемия 2: 284
- Мегалобласты 2: 284
- Медиатор 3: 261–266
- Медленно сокращающиеся мышцы 2: 587
- Медузы, флуоресцентные белки 1: 451
- Медь, в комплексе IV 2: 320–322
- Межклеточные взаимодействия/адгезия
 - интегрины 1: 549
 - кадгерины 1: 549
 - лектины 1: 372, 73
 - протеогликаны/олигосахариды 1: 364–370
 - селектины 1: 373, 374, 549
- Мезельсон Мэтью 3: 46
- Мезельсона–Сталя эксперимент 3: 46
- Мезофилл листьев, в C_4 -растениях 2: 424, 425

- Мейергоф Отто 2: 66, 83
 Мейоз 3: 82–84
 Меланокортин 2: 608
 Меланоцитстимулирующий гормон, см. Меланокортин
 Мембранные белки 1: 363, 364; см. также Гликопротеины; Протеогликаны
 -- амфитропные 1: 530, 531
 -- анализ методом атомно-силовой микроскопии 1: 544
 -- в рафтах 1: 545
 -- гидропатический индекс 1: 534
 -- дефекты, как причина заболеваний 1: 217
 -- интегральные 1: 530–532
 --- связь с липидными кольцами 1: 532
 -- остатки Тгр и Туг 1: 535, 536
 -- периферические 1: 530
 -- порины 1: 535
 -- связь с липидными компонентами 1: 536, 537
 -- α -спирали 1: 533–535
 -- β -цилиндр (бочонок) 1: 535, 536
 Мембранные гликопротеины 1: 369
 Мембранные липиды 1: 26, 369, 370, 496–506; 2: 470–476
 -- архей 1: 500
 -- биосинтез, см. Липиды, биосинтез
 -- болезни накопления 1: 505
 -- ганглиозиды 1: 369
 -- диффузия 1: 540, 541, 543
 --- измерение скорости 1: 542
 -- кольцевые 1: 533, 534
 -- микродомены 1: 543, 545
 -- плазмалогены 1: 497, 499
 -- разрушение в лизосомах 1: 503
 -- растений 1: 500
 -- рафты 1: 543, 545
 -- связывание с мембранными белками 1: 536, 537
 -- стерины 1: 504
 -- сфинголипиды 1: 501–504
 -- тилакоидных мембран 1: 499, 500
 -- у разных организмов 1: 526, 527
 -- фосфолипиды 1: 497
 -- эфирные 1: 499
 Мембранные липополисахариды 1: 369, 270
 Мембранные переносчики, в митохондриях 2: 307–321
 Мембранные рафты 1: 543–546, 632
 -- в передаче сигнала 1: 632
 Мембранный потенциал (V_m) 1: 551, 559, 562, 574, 577, 651
 Мембранный транспорт 1: 550–581
 -- ABC-транспортёры 1: 564, 566
 -- АТФ-зависимый 1: 563
 -- АТФ-синтаза 1: 63, 564
 -- Ca^{2+} -насос 1: 560
 --- SERCA 1: 560, 561
 -- Na^+K^+ -АТФаза 1: 562
 -- аквапорины 1: 570–573
 -- активный 1: 558
 --- первичный 1: 558
 --- вторичный 1: 558, 567
 -- антипорт 1: 558
 -- в нейронах 2: 578; 2: 590
 -- глюкозы 1: 553–556
 -- изменение свободной энергии 1: 552
 -- ионный градиент 1: 567
 -- ионофоры 1: 570
 -- котранспортные системы 1: 558
 -- липидов 2: 478
 -- мембранный потенциал 1: 551
 -- облегченная диффузия (пассивный транспорт) 1: 552
 -- пассивный 1: 552
 -- порины 1: 535
 -- симпорт 1: 558
 -- энергетические затраты 1: 569
 -- транспортёры, см. Ионные каналы; Переносчики; Транспортёры
 -- унипорт 1: 558
 -- факторы, облегчающие транспорт (MFS) 1: 569
 -- хлоридно-бикарбонатный обменник 1: 556, 557
 -- электрогенный 1: 559
 -- электротранспортный 1: 558
 -- электрохимический градиент 1: 551
 Мембраны 1: 525–549
 -- асимметрия 1: 528, 530
 -- динамика 1: 538–540
 -- диффузия молекул 1: 540
 -- двойной липидный слой 1: 528, 529
 -- основные состояния 1: 539
 -- кавеолы 1: 546
 -- модель строения 1: 527, 528
 -- плазматическая
 -- белки 1: 530, 537, 549
 -- липидный состав 1: 527, 530
 -- нервных клеток 2: 590
 -- проницаемость 1: 85, 527
 -- рафты 1: 543, 545
 -- связывание белков 3: 207, 214, 218
 -- состав у разных организмов 1: 526
 -- трансмембранный потенциал 1: 633
 -- поляризация 1: 633, 634
 -- слияние 1: 546–548
 -- в синапсах 1: 548
 Менахинон (витамин K_2) 1: 512
 Ментен Мод 1: 287
 Меринг (фон) Йозеф 2: 568
 Меромиозин 1: 257
 Меррифилд Р. Брюс 1: 152, 423
 Мерцающие кластеры 1: 75
 Метаболизм 1: 48; 2: 7, 579
 -- анаэробный, у целакантов 2: 92
 -- аэробный, у позвоночных 2: 92
 -- в головном мозге 2: 590, 591
 -- в жировой ткани 2: 585–587
 -- в мышцах 2: 587–590
 -- в печени 2: 579–585
 -- внутренние перегруппировки 2: 23, 24
 -- и биоэнергетика 2: 12–19
 -- окислительно-восстановительные реакции 2: 26, 27
 -- промежуточный 2: 7
 -- реакции с переносом групп 2: 25, 26
 -- регуляция по принципу обратной связи 1: 49
 -- роль АТФ 1: 49
 -- свободно-радикальные реакции 2: 25
 -- функция крови 2: 591, 592
 Метаболиты 1: 18, 32; 2: 7, 122
 -- вторичные 1: 32
 -- изменение концентрации 2: 128–131
 -- пул, в растениях 2: 437, 438
 Метаболическая вода 1: 104, 105
 Метаболические пути 1: 48; 2: 7–9
 -- анаболические 2: 7
 -- близость к равновесию 2: 128, 129
 -- катаболические 2: 7
 -- конвергентные 2: 8
 -- дивергентные 2: 8
 -- циклические 2: 8
 Метаболический алкалоз 1: 93
 Метаболический ацидоз 1: 93, 102
 Метаболический контроль 2: 127, 132
 -- анализ 2: 134–138
 Метаболический синдром 2: 615–618
 Метаболизм 1: 32; 2: 126
 Метаболон 2: 210, 211
 Металлопротеины 1: 131
 Металлы
 -- как катализаторы 1: 284, 285
 -- как кофакторы 1: 271, 309, 310
 -- как переносчики кислорода 1: 227
 Метамерия 3: 272
 Метан 2: 46

- Метанол
– в экстракции липидов 1: 515–517
– отравления 1: 297
- Метиладенин, деметилирование 3: 75, 77
- Метиладенозин 1: 395
- Метиламин, pK_a 1: 124, 125
- 7-Метилгуанозин 1: 395; 3: 75, 77
- Метилирование
– в анализе сахаров 1: 379
– в репарации ДНК 3: 74–77
– нуклеиновых оснований 1: 418, 419, 435, 436
– ферментов 1: 323
- 6-N-Метиллизин 1: 120
- Метилмалонил-КоА 2: 239
- Метилмалонил-КоА-мутаза 2: 240, 243
– дефекты 2: 287, 295
– при пернициозной анемии 2: 284
- Метилмалонил-КоА-эпимераза 2: 240
- Метилмалонилполуальдегид 2: 556
- Метилмалоновая ацидемия 2: 287, 295, 296
- 5-Метилцитидин 1: 395
- Метилцитозин, деметилирование 3: 68, 72, 75
- Метионин 1: 118; 2: 523, 538, 542
– биосинтез 2: 524, 531
– превращение в сукцинил-КоА 2: 294
- Метионинаденосилтрансфераза 2: 283
- Метионинсинтаза 2: 283, 284
- Метка экспрессируемой последовательности (EST) 1: 451
- Метотрексат 2: 558, 559
- Метэнкефалин 1: 68
- Миелоновая оболочка 1: 502, 526
- Микродомены мембраны 1: 543, 545
- Микроинъекции ДНК 1: 473
- Микроназ 2: 597
- МикроРНК 3: 138, 270
- Микроскопия атомно-силовая 1: 544
- Микротрубочки 1: 24, 25, 257
- Миллера–Юри эксперимент 1: 55, 56
- Мишельейн Сесар 1: 254
- Минералокортикоиды 2: 496, 575
– синтез 2: 348
- Минихромосомы, белки MCM 3: 64, 65
- Минковски Оскар 2: 568
- Минус-зеленые дихроматы 1: 655
- Минус-красные дихроматы 1: 655
- Миоглобин 1: 129, 139, 194, 200, 234
– гемовая группа 1: 195
– изучение методом ЯМР 1: 197–199
– рентгеноструктурный анализ 1: 194, 196, 197
– связывание кислорода 1: 226, 228–233
- Миозин 1: 257
– в мышечном сокращении 1: 260–262
– взаимодействие с актином 1: 257, 260–262
– суперспираль 1: 257
– толстые нити 1: 258
– фосфорилирование 1: 665
- Миокарда инфаркт 2: 140, 141
- Миоклоническая эпилепсия с разорванными красными мышечными волокнами (МЭРКМВ) 2: 351, 356
- Миофибриллы 1: 258, 259
- Миоцит 2: 140, 141, 166, 229, 587
– контроль синтеза гликогена 2: 137
- Миристиновая кислота 1: 488
- Миристоильная группа 1: 323, 537, 545
- миРНК 3: 270
- мир РНК, гипотеза 1: 57; 3: 153–159
- Митоз 1: 660, 662, 663
- Митохондриальная ДНК, см. мтДНК
- Митохондриальная энцефаломиопатия 2: 354
- Митохондриальное дыхание 2: 420
- Митохондриальные гены, мутации 2: 353–356
- Митохондрии
– АТР-синтазный комплекс 2: 331–336
– механизм вращательного катализа 2: 336–338
– при гипоксии 2: 344, 345
– апоптоз 2: 350
– в растениях, альтернативный путь окисления NADH 2: 325, 326
– вариации генетического кода 3: 172, 177
– гены 2: 351
– и диабет 2: 355, 356
– мутации 2: 353–355
– гетероплазмия 2: 354
– гомоплазмия 2: 354
– ДНК, см. мтДНК
– доставка NADH из цитозоля 2: 340–342
– доставка белков 3: 210, 215
– и ксенобиотики 2: 349
– и старение 2: 346, 353
– и хемиосмотическая теория 2: 306, 327, 328
– матрикс 2: 307
– мембранные переносчики 2: 309
– мембраны 2: 307
– образование активных форм кислорода 2: 324, 345
– β -окисление 2: 232–237
– ферменты, отличие от ферментов пероксисом и глиоксисом 2: 248
– отношение концентраций NADH/NAD⁺ 2: 102
– происхождение 2: 352, 353
– реакции переноса электронов 2: 306–320
– разобщение 2: 329, 330
– респирасомы 2: 320, 321
– синтез АТР 2: 237, 327–338
– выход 2: 343
– регуляция 2: 346, 347
– синтез стероидов 2: 348, 349
– строение 2: 307
– термогенез 2: 348
– типы цитохромов 2: 309, 310
– транспорт жирных кислот 2: 230–232
- Митчелл Питер 2: 305, 306, 327
- Мифепристон 1: 644
- Михаэлис Леонор 1: 287
- Михаэлиса кинетика 1: 287–290
- Михаэлиса константа (K_M) 1: 288, 290, 291
– кажущаяся 1: 295, 296
- Михаэлиса–Ментен уравнение 1: 288
– интерпретация параметров 1: 290
– преобразования 1: 289
- Мицеллы 1: 80, 81, 529
- Мишер Фридрих 1: 400
- Млекопитающие
– аквапорины 1: 571
– жировые запасы 1: 491–495
– клонирование 1: 473–479
– концентрация глюкозы в крови 1: 354
– повреждение ДНК 1: 416, 417
– протеоглики 1: 364
– сигнальные пути 1: 646, 647
- Мобильные элементы 3: 94, 148
- Модуляторы, в связывании белков с лигандами 1: 320
- Мозаичная модель мембран 1: 589
- Молекулярная масса 1: 32
- Молекулярные паразиты 1: 460; 3: 94, 155
- Молотоголовый рибозим 3: 138, 139
- Молочная кислота 1: 522
- Молочнокислородное брожение 2: 69, 91
– при сокращении мышц 2: 92
– роль пирувата 2: 91

Молчащие мутации **3**: 67
 Моно Жак **1**: 9, 28, 242, 408; **3**: 234
 Моногалактозилдиацилглицерин (МГДГ) **1**: 499
 Моноклональные антитела **1**: 254, 308, 479
 -- в противораковой терапии **1**: 669
 -- каталитические **1**: 308
 Моноксигеназы **2**: 460
 Моноксид азота (NO) **1**: 628; **2**: 576
 -- в роли гормона **2**: 572, 576
 -- при стенокардии **1**: 628
 -- синтез из аргинина **2**: 542, 543
 Моноксид углерода
 -- отравление **1**: 240, 241
 -- связывание с гемоглобином **1**: 228, 240, 241
 -- физиологическое действие **1**: 240, 241
 Моносахариды **1**: 339, 340, 347
 -- D- и L-изомеры **1**: 341
 -- альдоза **1**: 341, 342
 -- в гликолизе **2**: 87
 -- восстанавливающие свойства **1**: 347
 -- гексоза **1**: 341, 345
 -- производные **1**: 346, 347
 -- гептоза **1**: 341
 -- кетозы **1**: 341, 342
 -- конформация **1**: 345
 -- мутаротация **1**: 344
 -- номенклатура **1**: 341–343
 -- образование при гидролизе дисахаридов и полисахаридов **2**: 86
 -- окисление **1**: 347
 -- пентоза **1**: 341
 -- пиранозы **1**: 344
 -- полуацеталь **1**: 343
 -- полукеталь **1**: 343
 -- тетроза **1**: 341
 -- триоза **1**: 341
 -- фосфорилирование **1**: 347
 -- фураноза **1**: 344
 -- хиральные центры **1**: 341
 -- циклические формы **1**: 344
 --- формулы Хеуорса **1**: 345
 -- энантиомеры **1**: 341
 -- эпимеры **1**: 343
 Моно-Уаймена-Шанже модель **1**: 242, 243
 Моноцистронная мРНК **1**: 408
 Морфогены **3**: 273, 275
 Мотивы белковые **1**: 200–203
 -- ДНК-связывающие **3**: 237–242
 Моторные белки **1**: 256–262
 Мочевая кислота **2**: 555

Мочевина **2**: 273, 601
 -- в метаболизме аминокислот **2**: 263, 583, 584
 -- в метаболизме пиримидинов **2**: 555, 556
 мРНК (матричная РНК) **1**: 391, 408; **3**: 105
 -- в эволюции **1**: 56
 -- время полужизни **3**: 142
 -- длина **1**: 408
 -- искусственная **3**: 167
 -- 5'-кэп **3**: 123
 -- материнская **3**: 273
 -- моноцистронная **1**: 408
 -- поли(А)-«хвост» **3**: 122, 123, 130
 -- полицистронная **1**: 408
 -- процессинг **3**: 122–133
 -- расщепление **3**: 142
 -- редактирование **3**: 176
 -- скорость синтеза **2**: 124
 -- спаривание оснований с тРНК **3**: 173, 174
 -- сплайсинг **3**: 122, 125
 -- стабильность **2**: 124
 -- функции **1**: 408
 -- шпильки **1**: 406; **3**: 142
 МСГ (меланоцитстимулирующий гормон), см. Меланокортин
 мтДНК (митохондриальная ДНК) **3**: 172
 -- вариации генетического кода **3**: 172, 173
 Мультимер **1**: 205
 Мультисубъединичные белки **1**: 130, 240
 Мультифункциональный белок (MFP) **2**: 248
 Муравьиная кислота **2**: 45
 Мурамовая кислота **1**: 346
 Мусорная ДНК **3**: 156
 Мутагенез
 -- олигонуклеотид-направленный **1**: 446
 -- сайт-направленный **1**: 446, 447
 Мутагены **2**: 87
 Мутаротация **1**: 344
 Мутации **1**: 54, 415; **3**: 67
 -- ацил-СоА-дегидрогеназы **2**: 245
 -- в цикле лимонной кислоты, при раке **2**: 211
 -- в эволюции **1**: 54, 55; **3**: 278–280
 -- глутаматдегидрогеназы **2**: 270
 -- дегидрогеназы СоА-производных жирных кислот **2**: 245
 -- делеции **3**: 67
 -- замены **3**: 67
 -- и апоптоз **2**: 666

-- и окислительный стресс **1**: 419; **2**: 316
 -- инсерции **3**: 67
 -- канцерогенные **1**: 601, 666–671; **3**: 67, 79
 -- митохондриальных генов, см. Митохондрии
 -- молчащие **3**: 67
 -- нонсенс **3**: 203
 -- под действием излучения **1**: 417
 -- при амиллоидозе **1**: 215
 -- при кистозном фиброзе **1**: 565, 579
 -- при ретинобластоме **1**: 670
 -- при сахарном диабете **2**: 152, 153, 355, 597
 -- при синдроме Вернике-Корсакова **2**: 112
 -- при тромбастении **1**: 642
 -- роль алкилирующих агентов **1**: 418, 419
 -- супрессоров **3**: 203
 Муцины **1**: 368
 Мышечные белки **1**: 258–262
 -- актин **1**: 257
 -- миоглобин **1**: 194
 -- миозин **1**: 257
 -- тропонин **1**: 201, 261
 Мышечные волокна **1**: 258, 259
 Мышечные сокращения **1**: 260–262
 -- быстрые **2**: 587
 -- источники энергии **2**: 588, 589
 -- медленные **2**: 587
 -- функция АТФ **1**: 260, 261
 Мыши, трансгенные **1**: 477, 478
 Мышцы
 -- белки, см. Мышечные белки
 -- белые **2**: 587
 -- выведение аммиака **2**: 272
 -- источники энергии **2**: 588, 589
 -- красные **2**: 587
 -- МЭРКМВ **2**: 351, 356
 -- метаболизм **2**: 588–590
 -- углеводов **2**: 173
 -- сердечные **2**: 589
 -- структура **1**: 258, 259
 Мэдсен Нейл **2**: 212
 МЭРКМВ (миоклоническая эпилепсия с разорванными красными мышечными волокнами) **2**: 351, 356

Н

Надмолекулярные комплексы **1**: 18, 27, 33
 Направляющая РНК **3**: 176
 Натриевые каналы **1**: 578, 579, 635–637
 -- в сигнальных путях **1**: 627, 628

- Натрий
– содержание в крови **2**: 592
– транспортная АТРаза **1**: 569, 633
Натрий-глюкозный симпорт **1**: 569
Надпочечники **2**: 495
Налидиксовая кислота **3**: 24
Напроксен **2**: 462
Наследственная (семейная) гиперхолестеринемия **2**: 493–495
Наследственная нейропатия зрительного нерва Лебера **2**: 351, 354
Наследственный неполипозный рак толстой кишки **3**: 80
Натансон Даниэль **1**: 436
Нативная конформация (белка) **1**: 53, 172
Начальная скорость (v_0) **1**: 286
Небулин **1**: 259
Невосстанавливающие концы **1**: 347, 354
Неер Эрвин **1**: 575
Незаменимые аминокислоты **2**: 278, 523, 524; *см. также* Аминокислоты
Незаменимые жирные кислоты **2**: 459
Нейромедиаторы
– биосинтез из аминокислот **2**: 538, 539
– в роли гормонов **2**: 566
– высвобождение **1**: 635, 636
– при слиянии мембран **1**: 548
– рецепторы **1**: 638, 639
Нейроны
– Na^+ -каналы **1**: 578, 635–637
– анорексигенные **2**: 607–609
– вкусовые **1**: 656
– зрительные **1**: 650–656
– мембранный транспорт **2**: 590
– обонятельные **1**: 656
– орексигенные **2**: 607, 608
– светочувствительные **1**: 650
Нейропептид Y (NPY) **2**: 607
Нейроэндокринная система **2**: 566
Нейтральное значение pH **1**: 91, 92
Нейтральные гликолипиды **1**: 502
Нейтральные жиры, *см.* Триацилглицерины
Нековалентное связывание, *см.* Слабые взаимодействия
Некодирующая РНК (нкРНК) **3**: 271
Неконкурентный ингибитор **1**: 297
Нексавар (сорафениб) **1**: 669
Необратимые ингибиторы **1**: 295, 298
Неокислительная стадия пентозофосфатного пути **2**: 108, 109
Неравновесные стадии метаболических путей **2**: 128, 129
Нерв Лебера, наследственная нейропатия **2**: 351, 354
Нервная сигнализация **2**: 566
Нервный импульс, передача **1**: 636
Несовершенный остеогенез **1**: 191
Нестероидные противовоспалительные средства (НПВС) **1**: 508; **2**: 462, 463
Ниадин (никотиновая кислота) **2**: 53, 54
Никотин **2**: 53
Никотинамид **2**: 53
Никотинамидадениндинуклеотид, *см.* NAD⁺
Никотинамидадениндинуклеотид-фосфат, *см.* NADP⁺
Никотинамиднуклеотидсодержащие дегидрогеназы **2**: 307, 308
Никотиновая кислота, *см.* Ниадин
Никотиновый ацетилхолиновый рецептор **1**: 578, 579 638
– агрегаты в синапсах **1**: 542
– дефекты **1**: 579
– открытая/закрытая конформация **1**: 638, 639
Ник-трансляция **3**: 53
Нимана–Пика болезнь **1**: 505
Ниренберг Маршалл **3**: 167
Нитрификация **2**: 507
Нитрогеназный комплекс **2**: 510–513
Нитроглицерин **1**: 628
нкРНК (некодирующая РНК) **3**: 271
Номура Масайасу **3**: 180
Нонсенс-кодоны **3**: 170, 203
Нонсенс-мутации **3**: 203
Нонсенс-супрессоры **3**: 203
Норадреналин **2**: 538, 567, 574, 602
Нортроп Джон **1**: 270
НПВС (нестероидные противовоспалительные средства) **1**: 508; **2**: 462, 463
Нуклеазы **3**: 48
Нуклеин **1**: 400
Нуклеиновые кислоты **1**: 33, 391–399
– гибриды **1**: 414, 415
– гидрофильный остов **1**: 396
– ДНК **1**: 393, 394, 400–403; *см. также* ДНК
– 3'-конец **1**: 396
– 5'-конец **1**: 396
– пространственное строение **1**: 403–408
– зонды **1**: 443
– неферментативные превращения **1**: 415–419
– определение последовательности **1**: 419–422
– полярность **1**: 396
– РНК **1**: 393, 394, 408; *см. также* РНК
– пространственное строение **1**: 409–412
– состав **1**: 392–396
– синтез, *см.* Репликация; Транскрипция
– фосфодиэфирные связи **1**: 396
– функции **1**: 391
– химический синтез **1**: 422–424
Нуклеозиддифосфаткиназа **2**: 41, 198, 550
– механизм пинг-понг **2**: 41
Нуклеозиддифосфаты **1**: 424
Нуклеозидмонофосфаткиназы **2**: 550
Нуклеозидмонофосфаты **1**: 424, 550
– превращение в нуклеозидтрифосфаты **2**: 550
Нуклеозидтрифосфаты **1**: 424
– образование из нуклеозидмонофосфатов **2**: 550
Нуклеозиды **1**: 393, 394; **3**: 49, 51
Нуклеонид **1**: 18, 21; **3**: 36, 37
Нуклеосомы **3**: 27, 28
– ацелирование **3**: 258
– сборка хроматина **3**: 28–31
– фибриллы **3**: 31
5'-Нуклеотидаза **2**: 555
Нуклеотидная последовательность
– в эволюционных исследованиях **1**: 158, 159
– и аминокислотная последовательность **1**: 148, 152; **3**: 171
– определение **1**: 419–424
Нуклеотидсвязывающий мотив **1**: 425
Нуклеотиды **1**: 391–394
– биосинтез **2**: 543–554
– реутилизация **2**: 556
– гидролиз N-β-гликозидной связи **1**: 416, 417
– депуринизация **1**: 416, 417
– как кофакторы и коферменты **1**: 425, 426; **2**: 52, 54
– как сигнальные молекулы **1**: 427
– как универсальные переносчики электронов **2**: 49, 50
– метаболизм **2**: 543–557
– образование мочевины и мочевой кислоты **2**: 555–557
– неферментативные реакции **1**: 415–419
– сахаронуклеотиды **2**: 158, 428
– сокращенные обозначения **1**: 392, 394

– состав **1**: 392
 – спектр поглощения **1**: 398
 – структура **1**: 392
 – трансфосфорилирование **2**: 40, 41
 – триплеты, *см.* Кодоны
 – ферменты биосинтеза как мишени противоопухолевой терапии **2**: 558–560
 – флавиновые **1**: 426; **2**: 54, 55
 – фосфаты, как переносчики химической энергии **1**: 424, 425
 – фосфодиэфирные связи **1**: 396
 – и фосфоэфирные связи **1**: 425
 – эволюция **1**: 54, 56; **3**: 151–155
 Нуклеофил **2**: 21
 Нуклеофильное замещение в реакциях АТФ **2**: 37–39
 Нюсляйн-Фольхард Кристиана **3**: 273

О

Обесцвечивание флуоресценции (FRAP) **1**: 541, 542
 Облегченная диффузия **1**: 552, 553; *см. также* Переносчики
 Обмен головками, в синтезе фосфолипидов **2**: 472
 Обратимые ингибиторы **1**: 295
 Обратная транскриптаза **3**: 144
 Обходные реакции глюконеогенеза **2**: 98–103
 Общий кислотнo-основной катализ **1**: 283, 284
 Один ген – один белок, гипотеза **3**: 8
 Ожирение **2**: 600, 604–614
 Оказки фрагменты **3**: 48
 Окаймленные пузырьки **3**: 219
 Окисление
 – аминокислот, *см.* Аминокислоты, окисление
 – ацетата **2**: 202
 – в пентозофосфатном пути **2**: 107
 – в цикле лимонной кислоты **2**: 188–199
 –– изокитрата до α -кетоглутарата и CO_2 **2**: 192
 –– α -кетоглутарата до сукцинил- CoA и CO_2 **2**: 194, 195
 –– малата до оксалоацетата **2**: 199
 –– пирувата до ацетил- CoA и CO_2 **2**: 69, 182–187
 –– сукцината до фумарата **2**: 198
 – глицеральдегид-3-фосфата до 1,3-бисфосфоглицерата **2**: 76
 – глюкозы **2**: 49
 –– выход АТФ **2**: 80
 – жирных кислот
 –– α -окисление **2**: 250
 –– β -окисление **2**: 232–236, 245–248
 –– образование ацетил- CoA и АТФ **2**: 232–235
 –– ω -окисление **2**: 249
 – углерода в биологических процессах **2**: 21, 27, 45
 Окислительно-восстановительные реакции **1**: 43; **2**: 26, 27
 –– восстановительный потенциал **2**: 47, 48
 –– и дегидрирование **2**: 45
 –– полуреакции **2**: 44
 –– электродвижущая сила **2**: 44
 Окислительное дезаминирование **2**: 270
 Окислительное декарбоксилирование **2**: 183
 Окислительное фосфорилирование **2**: 305–346
 –– в сердечной мышце **2**: 589
 –– выход АТФ **2**: 343
 –– и активные формы кислорода **2**: 324, 345
 –– и субстратное фосфорилирование **2**: 78
 –– ингибирование гидролиза АТФ **2**: 344
 –– мембранные переносчики **2**: 309–313
 –– полиферментные комплексы **2**: 313–320
 –– разобщение **2**: 329, 330, 348
 –– термогенин **2**: 348
 –– регуляция **2**: 343–347
 –– респирасомы **2**: 320
 –– синтез АТФ **2**: 327–342
 –––– вращательный катализ **2**: 336–339
 –––– регуляция **2**: 346, 347
 –– термогенез в бурой жировой ткани **2**: 347, 348
 –– функция митохондрий **2**: 306, 307, 347; *см. также* Митохондрии
 –– хемиосмотическая теория **2**: 306, 327
 –– электрохимический потенциал **2**: 322, 323
 Окислительные стадии пентозофосфатного пути **2**: 108, 109
 Окислительный пентозофосфатный путь **2**: 111, 419, 435, 438
 Окислительный стресс, роль митохондрий **2**: 355
 Оксалоацетат **2**: 100
 – в C_4 -пути **2**: 424, 425
 – в глиоксилатном цикле **2**: 212–214

– в синтезе аминокислот **2**: 518, 523, 524
 – в цикле лимонной кислоты **2**: 190, 191, 199, 205
 – как продукт окисления малата **2**: 102, 199
 – как продукт превращения глюкогенных аминокислот **2**: 104, 280
 – как продукт расщепления аспарагина и аспартата **2**: 274, 297, 298
 Оксигеназы **2**: 659, 560
 – со смешанной функцией **2**: 460
 Оксидазы **2**: 27, 250
 – со смешанной функцией **2**: 291, 458–460, 477, 478, 483, 496
 Оксидоредуктазы **2**: 51
 Окситоцин **2**: 577
 Оксоглутарат, *см.* α -Кетоглутарат
 Октадекадиеновая кислота **1**: 488
 Октадекановая кислота **1**: 488
 Октадекатриеновая кислота **1**: 488
 Октадеценовая кислота **1**: 488
 Олеат **2**: 238
 – синтез **2**: 458, 459
 Олеиновая кислота **1**: 488
 Олигомеры **1**: 32, 130
 Олигонуклеотид-направленный мутагенез **1**: 446
 Олигонуклеотиды **1**: 397, 423
 Олигопептиды **1**: 128
 Олигосахариды **1**: 33, 339; *см. также* Дисахариды; Полисахариды; Углеводы
 – анализ **1**: 379–381
 – в ганглиозидах **1**: 502
 – в гликопротеинах **1**: 363, 368–371; **3**: 207, 213
 – в гликофореине **1**: 527, 531
 – взаимодействие с лектинами **1**: 372–378
 – конформация **1**: 357
 – номенклатура **1**: 351
 – N-связанные **1**: 368; **3**: 207, 213, 214
 – O-связанные **1**: 368; **3**: 207, 214
 – синтез **2**: 403–438
 – структура **1**: 371
 – химический синтез **1**: 381
 Олтан Сидней **3**: 141
 Онкогены **1**: 666–670
 – мутации **1**: 671; **3**: 146, 207
 Оператор **3**: 232
 Оперон **3**: 234
 – *his* **3**: 247
 – *lac* **3**: 234–236
 – *leu* **3**: 247
 – *phe* **3**: 247

– *trp* 3: 246–249
 – регуляция 3: 234–236
 Опины 1: 469, 470
 Опины 1: 652, 655; *см. также* Родопсин
 Оптическая активность 1: 37, 117
 Опухоль 1: 666, 671
 – анализ на микроципах 1: 465, 466
 – в растениях 1: 470
 – гены супрессоров 1: 666, 667, 670
 – методы лечения 1: 476, 477, 667–669
 – промоторы 1: 611
 – роль p53 1: 671
 – транскрипционный профиль 1: 466
 – фактор некроза (TNF) 1: 477, 672
 Органеллы 1: 22–25
 – разделение 1: 23
 – растений 2: 358, 405
 Органические растворители, экстракция липидов 1: 510, 515, 516
 Органотрофы 1: 20
 Оргел Лесли 3: 152
 Ориджин 3: 48
 Орексигенные нейроны 2: 607, 608
 Ориджин-независимое начало репликации 3: 89
 Орнитин 1: 122, 123; 2: 519
 – в цикле мочевины 2: 273–275
 Орнитин-δ-аминотрансфераза 2: 519, 521
 Орнитиндекарбоксилаза 2: 540–542
 Орнитинтранскарабоилаза 2: 273
 Оротат 2: 543
 Ортологи 1: 61, 157, 462
 Осельтамивир (тамифлю) 1: 374
 Осмолярность 1: 85
 Осмос 1: 85, 86
 Осмотический лизис 1: 86
 Основания
 – азотистые (в нуклеотидах) 1: 26, 392; *см. также* Пиримидины; Пурины
 – алкилированные, репарация 3: 74–77
 – анти-форма 1: 403, 404
 – в кодонах 3: 171
 – водородные связи 1: 399
 – дезаминирование 1: 416–418
 – и азотистая кислота 1: 418
 – качающиеся пары 3: 172–175
 – метилирование 1: 419
 – минорные 1: 395
 – син-форма 1: 403, 404
 – спаривание 1: 399
 – таутомерные формы 1: 398
 – функциональные группы 1: 398

– химические свойства 1: 397, 398
 – Чаргаффа правила 1: 400
 – аминокислот 1: 123
 – в буферных системах 1: 96–98
 – слабые 1: 89, 93
 Основное состояние 1: 274; 2: 361
 Основные транскрипционные факторы 3: 118, 120
 Островковые клетки (клетки Лангерганса) 2: 595
 Острый лимфобластный лейкоз (ОЛЛ) 2: 523
 Острый миелоидный лейкоз 1: 668
 Отжиг ДНК 1: 410, 413, 414, 420
 Открытая рамка считывания 3: 171
 Открытая система 1: 41
 Относительная молекулярная масса (*Mr*) 1: 32
 Отравление моллюсками 1: 581
 Отстающая цепь 3: 48
 Очоа Северо 2: 83, 160, 359; 3: 142, 143

П

Паладе Джордж 3: 211
 Палиндромная ДНК 1: 405
 Пальмитат
 – в синтезе жирных кислот 2: 452–454, 458
 – десатурация 2: 458
 – синтез 2: 449, 452–454
 Пальмитиновая кислота 1: 488
 Пальмитонильная группа
 – окисление 2: 235, 236
 – пальмитил-*CoA* 2: 458
 – связывание с мембраной 1: 543, 545
 Пальмитолеиновая кислота 1: 488
 Пальмитоилеат, синтез 2: 458
 Панкреатит острый 2: 266
 Панкреатические клетки
 – α 2: 595
 – β 2: 595, 596, 615
 Панкреатический ингибитор трипсина 2: 264
 Паразиты молекулярные, эволюция 3: 94, 155
 Паракринные гормоны 2: 571, 574
 – эйкозаноиды 1: 507
 Паралоги 1: 61, 157, 462
 Парамиозин 1: 260
 Парацитоидная железа 2: 576
 Паркинсона болезнь, аномалия фолдинга 1: 215, 217
 Парного правила гены 3: 274
 Пассивный транспорт 1: 552, 553
 Пастер Луи 1: 36, 37; 2: 80

Пейс Норман 3: 141
 Пеллагра 2: 63
 Пенициллин
 – ген устойчивости на плаزمиде 3: 10
 – механизм действия 1: 314
 Пентозофосфатный (фосфоглюконатный, гексозомонофосфатный) путь 2: 107, 406, 438
 – восстановительный 2: 112, 406
 – и гликолиз 2: 112
 – неокислительный этап 2: 108, 109, 406–415
 – общая схема 2: 108
 – окислительный этап 2: 108, 109
 – окислительный 2: 108, 111
 – синдром Вернике–Корсакова 2: 112
 – синтез NADPH 2: 107
 – функция глюкозо-6-фосфата 2: 109, 112, 582
 –– дефект Г6ФДГ 2: 106
 Пентозофосфаты 2: 82, 109
 – превращения 2: 412
 – синтез в цикле Кальвина 2: 406
 Пентозы 1: 341
 – в нуклеиновых кислотах 1: 396, 404
 – в нуклеотидах 1: 392
 Пепсиноген 2: 264
 Пептидилпролил-*цис-транс*-изомераз (PPI) 1: 214
 Пептидилтрансфераза 3: 200
 Пептидный (P) сайт рибосомы 3: 197–202
 Пептидная группа 1: 174
 Пептидная связь 1: 127, 175
 – в α-спирали 1: 177
 – образование в синтезе белка 3: 200
 –– *транс*-конфигурация 1: 182
 –– *цис*-конфигурация 1: 182
 Пептидные гормоны 2: 567, 569–574
 Пептидогликаны 1: 362; 2: 433
 – ингибирование синтеза пенициллином 1: 314, 315
 – синтез в бактериях 2: 433, 434
 Пептиды 1: 127; *см. также* Белки; Полипептиды
 – аминокислотный состав 1: 127, 128
 – ионизация 1: 128
 – номенклатура 1: 128
 – определение последовательности 1: 143–145, 147
 – химический синтез 1: 152–154
 Первичная структура белка 1: 141
 –– анализ 1: 143–151

- Первичный активный транспорт
1: 558
- Первичный бульон 1: 56–58
- Первичный системный амилоидоз
1: 215
- Первичный транскрипт 3: 122
-- процессинг 3: 122–143
-- сплайсинг 3: 122, 125
- Передняя доля гипофиза 2: 566, 567
- Переключатели, в G-белках
1: 599–602
- Переключение типа спаривания у
дрозофил 3: 256
- Перенос генов, латеральный 1: 157
- Переносчики 1: 271, 525, 540, 552,
558, 560 *см. также* Ионные
каналы; Транспортёры
- ABC 1: 565; 2: 489
- Ca^{2+} -насос 1: 560, 561
- F-типа АТФазы 1: 563
- GLUT 1: 553–556
- Na^+/K^+ -АТФазы 1: 562
- Na^+ /глюкозный симпорт 1: 569,
570
- P-типа АТФазы 1: 560
- SERCA насос 1: 560, 561
- V-типа АТФазы 1: 564
- активные 1: 553
- аланин как переносчик аммиака
2: 271, 272
- ацилкарнитиновый/карнитиновый
2: 230–232
- глутамин как переносчик аммиака
2: 270
- глюкозы 2: 553–570
-- Na^+ /глюкозный симпорт 1: 569,
570
-- в кишечнике (GLUT2) 1: 556, 569
-- в мышцах (GLUT4) 1: 556
-- в эритроцитах (GLUT1) 1:
553–555
-- дефекты при диабете 1: 556
- жирных кислот 2: 229–232
- и ионные каналы 1: 552, 553
- ионофоры 1: 570
- котранспортные системы 1: 567
- коферменты как переносчики
электронов, атомов и функцио-
нальных групп 1: 271
- лактозы 1: 567, 568, 588
- липидов 2: 485–487
- мальтозы 1: 536
- мультилекарственные 1: 564
- пассивные 1: 553
- скрамбазы 1: 541
- флиппазы 1: 541
- флоппазы 1: 541
- фосфолипидов 1: 540
- цитрата 2: 455
- Переходное состояние
-- аналоги 1: 307
-- в ферментативной реакции 1: 47,
48, 268, 274, 306
-- комплементарность ферменту
1: 279, 280, 306–308
- Перилипин 2: 228, 229
- Пермеазы 1: 552, 567
- Пернициозная анемия 2: 284
- Пероксисома 2: 213, 245, 246
- PPAR 2: 244, 612
- метаболизм липидов 2: 421, 422
- растений 2: 247
- Перуцц Макс 1: 205
- Петли
- в белковых структурах 1: 200, 201
-- β - α - β 1: 202
- ДНК 1: 414, 417; 3: 37, 47
- РНК 1: 409, 410
- Печень
- высвобождение аммиака глутамин-
ом 2: 263, 264, 269
- гликоген 1: 353
- глицеронеогенез 2: 469
- детоксикация 2: 585
- доставка аммония аланином 2: 271,
272
- каскад адреналина 1: 606
- метаболизм 2: 579, 580
-- аминокислот 2: 582–584
--- с разветвленной цепью 2: 296,
297
-- гликогена 2: 154–164
-- глутамин 2: 269, 270
-- глюкозы 2: 581, 582
-- жирных кислот 2: 584
-- углеводов 2: 581, 582
- образование кетоновых тел
2: 251–253
- рецикл триацилглицеринов 2: 467,
468
- синтез холестерина 2: 483, 484
- ферменты 2: 579, 589
- Пигментная ксеродерма 3: 79, 80
- Пигменты 2: 535, 536, *см. также*
Фотопигменты желчи
- зрительные 1: 511, 512, 514
- светопоглощающие *Halobacterium*
salinarum 2: 388
- Пили 1: 21
- Пинг-понг (механизм реакции)
1: 293, 294
- Пиоглиазон (актос) 2: 612, 617
- Пиранозы 1: 344, 345
- Пиридиннуклеотиды 2: 51
- Пиридоксальфосфат 2: 266, 267
- в реакции гликогенфосфорилиазы
2: 155
- Пиримидиновые димеры
-- образование 1: 417
-- репарация фототиазы 3: 74
- Пиримидиновые нуклеотиды,
см. Пиримидины
- Пиримидины 1: 392, 397, 398, 416
- биосинтез 2: 543
- катаболизм 2: 555
- реутилизация 2: 556
- синтез *de novo* 2: 548
- Пирофосфатаза неорганическая
2: 38, 39, 161
- Пирофосфорильная группа 2: 37, 73
- Пирролизин 3: 191
- Пируват
- альтернативные пути превращений
2: 69, 149
- в анаэробных реакциях
2: 204, 205
- в биосинтезе аминокислот 2: 518,
523
- в гликолизе 2: 66–70
--- энергетический выход 2: 202,
343
- в глицеронеогенезе 2: 468
- в глюконеогенезе 2: 97, 99
- в молочнокислом брожении 2: 69
- в спиртовом брожении 2: 69, 93
 декарбоксилирование и дегидриро-
вание под действием ПДГ 2: 186
- как продукт расщепления амино-
кислот 2: 285, 288
- метаболизм в печени 2: 582–584
- окисление до ацетил-КоА и CO_2
2: 182, 183
- перенос из цитозоля в митохон-
дрии 2: 456
- превращение в фосфоенолпируват
2: 100–103
---- регуляция 2: 148, 149
---- в растениях 2: 425
- при фенилкетонурии 2: 291
- таутомеризация 2: 79
- Пируватдегидрогеназа 2: 184
- Пируватдегидрогеназный комплекс
2: 182–187
-- синтез ацетил-КоА 2: 186
- Пируватдекарбоксилаза 2: 93, 95
- Пируваткарбоксилаза 2: 100, 101,
149, 205
- Пируваткиназа 2: 32, 79, 128
- регуляция 2: 147, 148
- Пируват-фосфатдикиназа, в C_4 -пути
2: 425, 426

- Питание, гормональный контроль
2: 607–615
- Питательные вещества
-- перенос кровью 2: 591, 592
-- расщепление в печени 2: 579
- Плазма крови 2: 591, 592
-- белки 2: 592
-- глюкоза 2: 592
-- транспорт липопротеинов 2: 485–488
- Плазмалогены 1: 497, 499; 2: 476, 477
- Плазматическая мембрана
-- глипиканы 1: 364, 365
-- ионные каналы 1: 633–639
-- липидные рафты 1: 632
-- липополисахариды 1: 369, 370
-- нейронов, транспорт веществ 1: 639
-- проницаемость 1: 85, 573, 574
-- связывание белков 3: 214
-- связывание ДНК при репликации 3: 58
-- синдекан 1: 364, 365
- Плазмидные вектора 1: 434, 436, 437, 439–443
-- pBR322 1: 439
-- Ti 1: 469–471
- Плазмиды 1: 21, 439; 3: 10
- Плазмодесмы 2: 424, 425
- Планктомицеты 2: 508, 509
- Пластиды 2: 405, 406
-- эволюция 1: 59
- Пластохинон 1: 512, 513
-- PQA 2: 374, 376
- Пластоцианин 2: 373, 376, 373
- Плектонемическая спираль 3: 24–26
- Поворотная симметрия 1: 206
- β -Повороты 1: 182, 183
- Повторы ДНК 3: 56, 58, 94, 148, 238
- Поглощение света (A) 1: 121
-- NAD⁺ и NADH 2: 50
-- опсинами 1: 655
-- спектр цитохрома c 2: 310
- Подагра 2: 557, 563
- Поджелудочная железа 2: 568
-- в регуляции метаболизма глюкозы 2: 595, 596
- Полани Майкл 1: 280
- Поли(A)-«хвост» 3: 130, 156
- Полиаденилатполимераза 3: 130
- Полиакриламид, для электрофореза 1: 136
- Поликлональные антитела 1: 254
- Полилинкер 1: 437, 438
- Полимеразная цепная реакция (ПЦР) 1: 452, 453
--- в методе отпечатков 1: 455–457
- Полимеразы, см. ДНК-полимеразы; РНК-полимеразы
- Полиморфизм 1: 142
-- длины рестрикционных фрагментов 1: 455
-- одного нуклеотида 1: 460
- Полиморфные белки 1: 142
- Полиненасыщенные жирные кислоты 1: 489
- Полинуклеотидкиназа 1: 435
- Полинуклеотидфосфатаза 3: 142
- Полинуклеотиды 1: 397
-- синтетические 3: 142
- Полиовирус, симметрия 1: 207
- Полипептидная цепь, элонгация 3: 179, 180
- Полипептиды 1: 127, 128, см. также Пептиды
- Полисахариды 1: 340, 352–362, см. также Углеводы
-- во внеклеточном матриксе 1: 359
-- конформация 1: 357–358
-- функции 1: 362
- Полисомы 3: 204
- Полиферментный комплекс в окислительном фосфорилировании
----- комплекс I 2: 313–315
----- комплекс II 2: 316–318
----- комплекс III 2: 318
----- комплекс IV 2: 318–320
-- туннелирование субстрата 2: 187
- Полифосфат неорганический 2: 42
- Полифосфаткиназы 1 и 2 2: 42
- Полицистронная мРНК 1: 408
- Полностью *транс*-ретинаяль 1: 511
- Половые гормоны 1: 509; 2: 574
-- синтез 2: 348, 495, 574
- Полоса
-- A 1: 259
-- I 1: 259
- Полуацеталь 1: 434
- Полукеталь 1: 434
- Полуконсервативная репликация 3: 45
- Полуреакция 2: 44, 45
-- стандартный восстановительный потенциал 2: 47
- Поляризация мембран, в передаче сигнала 1: 633–640
- Полярность
-- аминокислот 1: 118
-- определение 1: 534
-- в эмбриональном развитии 3: 271, 273
-- сегментов, гены 3: 274
- Полярные липиды, разделение 1: 515
- Помпе болезнь 2: 159
- Попьяк Джордж 2: 484
- Порины 1: 535, 536; 2: 306
- Портер Родни 1: 251
- Порфирин 2: 532
- Порфирия 2: 534
- Порфириновое кольцо 1: 227
- Порфобилиноген 2: 532
- Порядок зацепления (*Lk*) 3: 18
- Последовательность ядерной локализации (NLS) 3: 216, 217
- Посттрансляционная модификация белков 3: 179, 180, 206
- Потенциал мембранный (V_m) 1: 551
- Потенциалзависимые ионные каналы 1: 574–581
--- в сигнальных путях 1: 635–639
- Поток метаболитов (*J*) 2: 123, 128, 133–137
-- коэффициент управления (*C*) 2: 135
- Поток электронов
-- в антеннах хлорофиллов 2: 374, 375
-- в бактериях 2: 367, 368
-- в хлоропластах 2: 372
-- индуцированный светом 2: 367
-- протонный градиент 2: 382, 383
-- расщепление воды 2: 379, 380
-- роль комплекса цитохрома *b6f* 2: 376, 377
- Почки
-- аквапорины 1: 556, 571–573
-- ионный баланс 2: 592
-- метаболизм глутамина 2: 270, 271
-- расщепление разветвленных аминокислот 2: 296
-- эндокринная функция 2: 576
- Правастатин (правахол) 2: 494
- Правахол (правастатин) 2: 494
- Прадера-Вилли синдром 2: 614
- Праймаза 3: 55, 58, 59
- Праймер
-- в репликации ДНК 3: 55
-- в репликации РНК 3: 146
- Праймирование 2: 168
- Праймосома 3: 89
- Пребиотическая химия 1: 55, 56
- Преднизолон 1: 508, 509
- Преднизон 1: 508, 509
- Предстационарная кинетика 1: 287, 294
- Пренилирование 2: 496
- Пренилтрансфераза 2: 23
- Препроинсулин 2: 572
- Пререпликативный комплекс 3: 64
- Прерибосомная рРНК (пре-рРНК) 3: 117, 134, 135

Прионные болезни **1**: 217, 218
 Прионы **1**: 217, 218
 Пробела гены **3**: 273, 276
 Пробелки **1**: 328
 Прогестерон, синтез **2**: 495
 Прогормоны **2**: 572
 Программируемая клеточная смерть, см. Апоптоз
 Проинсулин **2**: 572, 573
 Прокарбоксипептидаза
 – А **2**: 264
 – В **2**: 264
 Прокариоты **1**: 18, см. также Бактерии
 Пролил-4-гидроксилаза **1**: 190, 191
 Пролин **1**: 118; **2**: 292
 – биосинтез **2**: 519, 520
 – в активационных доменах **3**:
 – в коллагене **1**: 187–191
 – в β -поворотах **1**: 182
 – в β -слоях **1**: 183
 – в α -спиралях **1**: 180
 – превращение в α -кетоглутарат **2**: 293
 Промежуточное соединение **1**: 305
 Промежуточные филаменты **1**: 24
 – белки **1**: 185, 186
 Промотор **3**: 110, 231
 – в экспрессирующих векторах **1**: 444, 445
 – опухоли **1**: 611
 – специфичность **3**: 118, 232
 Проницаемость мембран **1**: 525, 527
 Проопиомеланокортин (ПОМК) **1**: 573
 Пропионат **2**: 239
 Пропионил-СоА **2**: 239, 240
 Пропионил-СоА-карбоксилаза **2**: 239
 Пропластиды **2**: 405
 Пропранолол **1**: 597
 Прорастающие семена, глюконеогенез **2**: 105, 436
 Простагландин-Н₂-синтаза (цикло-оксигеназа) **2**: 461
 Простагландины **1**: 508
 – Е1 **1**: 508, 647
 – G2 **2**: 461
 – Н₂ **2**: 463
 – синтез **2**: 461, 462, 574
 Простая транспозиция **3**: 95
 Протестическая группа **1**: 131, 271
 – гем **1**: 227
 – посттрансляционное присоединение **1**: 227; **3**: 207
 Протеазы
 – аспартильные **1**: 318
 – в секвенировании белков **1**: 146

– ингибиторы **1**: 307, 314
 – металлопротеиназы **1**: 318
 – сериновые **1**: 303, 318
 – цистеиновые **1**: 318
 Протеасома **1**: 18, 663; **3**: 220, 222
 Протеинкиназы **1**: 324; **2**: 127
 – А (РКА) **1**: 599
 – активация **1**: 599, 604
 – анализ методом FRET **1**: 612–614
 – в β -адренергических путях **1**: 605, 606
 – и АКАР **1**: 608, 609
 – инактивация **1**: 605–608
 – регуляция ферментов **1**: 326, 565, 566, 605
 – АМР-зависимая **2**: 130, 131
 – В (РКВ) **1**: 622, 623
 – С (РКС) **1**: 507, 610, 611
 – и форболовые эфиры **1**: 611
 – G (РКС) **1**: 627, 628
 – Ca²⁺/кальмодулин-зависимые **1**: 614, 616
 – сАМР-зависимые, см. Протеинкиназа А
 – сGMP-зависимые, см. Протеинкиназа G
 – аутоингибирование **1**: 599, 630
 – в регуляции клеточного цикла **1**: 660–665
 – в сигнальных путях **1**: 595, 646
 – в транскрипции **3**: 120
 – гистидиновые **1**: 646–648
 – как мишени в противоопухолевой терапии **1**: 667–670; **2**: 82
 – консенсусные последовательности **1**: 325, 327, 603
 – рецепторные тирозинкиназы **1**: 619–624
 – система JAK-STAT **1**: 624, 625
 – рецептороподобные, в растениях **1**: 648, 649
 – сопряженные с G-белком **1**: 606, 607
 – субстратная специфичность **1**: 325–327
 – фосфорилирующая активность **1**: 325–328
 – циклинзависимые **1**: 660–665
 Протеинфосфатазы **1**: 606; **2**: 127
 Протеоглики **1**: 363–366
 – агрегаты **1**: 366
 Протеолитический процессинг **3**: 207, 221
 – в активации белков **1**: 328
 Протеолитические ферменты, регуляция **1**: 328, 663
 Протеом **1**: 461; **2**: 126

Протеомика **1**: 434
 Противовирусные препараты **1**: 374
 Протомеры **1**: 130, 205
 Протондвижущая сила **2**: 323, 327, 339
 – во вращении жгутиков **2**: 352
 Протонная помпа, см. АТРаза
 Протоны
 – градиент **2**: 322–326, 382, 383
 – перенос при кислотно-основном катализе **1**: 283, 284
 – прыжки **1**: 84, 90, 572
 Протоонкогены **1**: 666
 Протопорфирин **1**: 227; **2**: 310, 534
 Протопорфириноген **2**: 24
 Протромбин **1**: 512
 Проферменты **1**: 328
 Прохиральные молекулы **2**: 200
 Процессивность ДНК-полимеразы **3**: 50
 Процессинг РНК **3**: 122–143
 Прузинер Стенли **1**: 218
 Прыгающие гены **3**: 81
 Прямая транспозиция **3**: 95
 Псевдоуридин **1**: 395; **3**: 128, 134, 135
 Пуриновое кольцо, происхождение атомов **2**: 544
 Пуриновые нуклеотиды, см. Пурины
 Пуриновые основания **1**: 392, 393
 – анти-форма **1**: 403, 404
 – водородные связи **1**: 399
 – дезаминирование **1**: 416–418
 – минорные **1**: 395
 – потеря **1**: 416–418
 – реутилизация **2**: 556
 – син-форма **1**: 403, 404
 – таутомерные формы **1**: 398, 419
 – Чаргаффа правила **1**: 400
 Пурины **1**: 392, 397, 398, 416
 – биосинтез **2**: 543
 – расщепление **2**: 555
 – регуляция синтеза **2**: 547
 – реутилизация **2**: 556
 – синтез *de novo* **2**: 544, 545
 Пуромидин **3**: 208
 Пурпурные бактерии **1**: 60
 – бактериородопсин **1**: 533, 544
 ПЦР (полимеразная цепная реакция) **1**: 10, 452
 Пэтч-кламп метод **1**: 574, 575
Р
 Равновесие **1**: 46, 47, 274; **2**: 14
 – константа (K_{eq}) **1**: 47, 90, 94, 276; **2**: 14–16
 – в метаболизме углеводов **2**: 128, 129

- ионизации воды 1: 90, 91
- и изменение свободной энергии 1: 47; 2: 14–17
- расчет 2: 18, 19
- двух связанных реакций 2: 19
- гидролиза АТФ 2: 18, 19, 27
- Радикал 2: 21
- гидроксильный 2: 324
- свободный 2: 24, 25, 324
- супероксидный 2: 316, 324
- тирозинный 2: 551
- Радиоиммуноанализ 2: 569
- Разветвляющий фермент хлоропластов 2: 428
- в метаболизме гликогена 2: 156
- Развитие, регуляция генов 3: 271–280
- Разобщающий белок (термогенин) 2: 348, 586, 609
- Райзинг 3: 20
- Рак
- АВС-транспортёры 1: 564, 565
- генная терапия 1: 475–477
- и гены супрессоров 1: 667, 670, 671
- и система репарации ДНК 3: 79, 80
- интегрины 1: 641, 642
- как осложнение генной терапии 1: 475–477
- как результат повреждений ДНК 1: 419
- кожи, при ксеродерме 3: 79
- лечение
- генная терапия 1: 475–477
- ингибиторы топоизомераз 3: 24, 25
- ингибиторы протеинкиназ 1: 667–670; 2: 82
- ингибиторы ферментов биосинтеза нуклеотидов 2: 558, 559
- стероидные препараты 1: 644
- химиотерапия 1: 82; 2: 523, 558, 559; 3: 24, 25, 204
- метаболизм глюкозы 2: 81–83
- микрочипы в анализе 1: 466
- молочной железы 1: 644; 3: 80
- мутации 1: 601, 666–671; 2: 211; 3: 145, 207
- онкогены 1: 666–670
- ПЭТ-сканирование 2: 83
- ретровирусы 3: 146
- селектины 1: 374
- толстой кишки 1: 667; 3: 80
- мутации 1: 670, 671
- Рамачандрана карта 1: 176
- Рамка считывания 3: 167
- открытая 3: 171
- сдвиг 3: 175
- Рамноза 1: 345
- Раскрывание ДНК 3: 21–24
- Расплавленная глобула 1: 211
- Растения
- С₃ 2: 422–425
- С₄ 2: 422–425
- САМ 2: 426
- аквапорины 1: 572, 573
- амилопласты 2: 405
- брассинолид 1: 509
- гликолатный путь 2: 421, 422
- глиоксисомы 2: 213, 246–248
- гормоны роста 1: 470
- десатуразы 2: 459, 461
- ДНК 3: 173, 270
- иммунные реакции 1: 649
- клонирование 1: 469–473
- летучие сигнальные вещества 1: 509, 510
- мембранные липиды 1: 500
- метаболизм липидов 2: 454
- метаболизм углеводов 2: 426–433; *см. также* Цикл Кальвина
- интеграция 2: 435–438
- митохондриальное дыхание 2: 420
- митохондрии, альтернативный путь окисления NADH 2: 326
- органеллы 2: 22, 23, 213, 246, 358, 405
- осмотическое давление 1: 87
- пентозофосфатный путь 2: 406
- пероксисомы 2: 246–248
- пластиды 2: 405, 406
- пропластиды 2: 405
- пулы метаболитов 2: 437
- рецептор этилена 1: 647, 648
- сигнальные пути 1: 646–649
- синтез NADPH 2: 453–455
- синтез клеточной стенки 2: 431–433
- сосудистые 1: 646
- структура клетки 1: 22, 27
- фиксация азота 2: 512, 513
- фотодыхание 2: 420, 422
- фотосинтез, *см.* Фотосинтез
- хлоропласты, *см.* Хлоропласты
- Раус Ф. Пейтон 3: 146
- Рауса саркома, вирус 3: 146
- Рахит 1: 510, 511
- Рацемическая смесь 1: 36, 37
- Регулон 3: 245
- Регуляторные белки 3: 233, 237, 241
- Регуляторные последовательности 3: 8, 234
- Регуляторные ферменты 1: 319–322
- Регуляция экспрессии генов 3: 229–280
- SOS-ответ 3: 76, 249
- ТАТА-связывающий белок 3: 118
- активаторы 3: 232
- транскрипции 3: 266
- активирующая последовательность UAS 3: 261
- антигенные вариации 3: 256
- аттенуация транскрипции 3: 245–249
- богатый глутамином домен 3: 265
- богатый пролином активационный домен 3: 266
- в бактериях 3: 243–256
- в развитии 3: 271–280
- в эукариотах 3: 257–280
- вторичные мессенджеры 3: 252, 268
- гормональная 1: 619, 621; 3: 266–268
- ДНК-связывающие домены 3: 237
- индукторы 3: 235
- индукция 3: 230, 236
- катаболитная репрессия 3: 244
- кислый активирующий домен 3: 265
- коактиваторы 3: 262
- медиатор 3: 262
- нарушение в опухолевых клетках 2: 81–84
- операторы 3: 232
- опероны, *см.* Опероны
- отрицательная 3: 232
- переключение типа спаривания у дрожжей 3: 256
- положительная 3: 232
- принципы 3: 229–243
- регулоны 3: 245
- рекомбинационная 3: 256
- ремоделирование хроматина 3: 257–260
- репрессия 3: 231
- репрессоры 3: 232
- рибопереклюатели 3: 253
- РНК-интерференция 3: 270
- сайленсинг 3: 270
- сайт-специфическая рекомбинация 3: 89, 256
- строгий ответ 3: 251
- фазовая вариация 3: 256
- факторы специфичности 3: 232
- функция инсулина 1: 619, 621; 2: 149, 150
- энхансеры 3: 233
- эффекторы 3: 232
- Редактирование РНК 3: 175, 176

- Рекомбиназа **3**: 91–95
 Рекомбинантная ДНК **1**: 434
 -- в клонировании животных клеток **1**: 473–477
 -- в медицине **1**: 479, 480
 -- в секвенировании геномов **1**: 449–461
 -- в сельском хозяйстве **1**: 469–473
 -- для создания библиотек ДНК **1**: 449–451
 -- методы **1**: 434–461
 Рекомбинационная репарация ДНК **3**: 78, 81, 89, 90
 Рекомбинация ДНК **3**: 43, 81
 -- в репарации **3**: 77, 78
 -- генов иммуноглобулинов **3**: 95–98
 -- гомологичная **3**: 81
 -- и мейоз **3**: 82, 84
 -- кроссинговер **3**: 83
 -- миграция точки ветвления **3**: 85
 -- реакция обмена цепей ДНК **3**: 88
 -- сайт-специфическая **3**: 81, 89–94
 -- сигнальные последовательности **3**: 97
 -- транспозиция **3**: 81, 94, 95
 -- ферменты **3**: 85–89
 Релаксированная ДНК **3**: 16–21
 Реленза (занамивир) **1**: 374
 Ренатурация белков **1**: 209
 Рентгеновская дифракция, метод анализа
 ----- белков **1**: 532, 533, 573
 ----- ДНК **1**: 400–402
 ----- полисахаридов **1**: 357, 358
 Репарация ДНК **1**: 446, 670, 671;
3: 66–80
 -- SOS-ответ **3**: 76, 78, 249
 -- TLS-полимеразы **3**: 76, 79
 -- в димерных хромосомах **3**: 93
 -- ДНК-полимеразы **3**: 52, 79, 89
 -- и рак **3**: 79, 80
 -- корректирующая активность **3**: 51–53
 -- ник-трансляция **3**: 53
 -- ошибочно спаренных оснований **3**: 68, 99
 -- прямая **3**: 68, 74
 -- рекомбинационная **3**: 78, 81, 89, 90
 -- с эксцизией нуклеотидов **3**: 68, 73, 74
 -- с эксцизией оснований **3**: 68, 71–73
 -- функция циклинзависимых протеинкиназ **1**: 661–664
 -- через повреждение **3**: 76
 Репликативная вилка **3**: 47, 48
 -- восстановление **3**: 89
 -- остановка **3**: 63, 77, 80, 89
 Репликативная транспозиция **3**: 95
 Репликативные формы **3**: 9
 Репликация ДНК: **1**: 52; **3**: 43–66
 -- Тер-последовательность **3**: 63
 -- Tus-Тер комплекс **3**: 63
 -- в бактериях **3**: 52–63
 -- в эукариотах **3**: 64, 65
 -- ДНК-полимеразы **3**: 52, 61, 64, 65
 -- ДНК-связывающие белки **3**: 58
 -- инициация **3**: 56–58
 -- корректирующая активность **3**: 50
 -- лидирующая цепь **3**: 48, 58–60
 -- матрица **3**: 50
 -- направленность **3**: 48
 -- ник-трансляция **3**: 53
 -- нуклеофильная атака **3**: 49
 -- отстающая цепь **3**: 48, 58–62
 -- ошибки **3**: 50–52
 -- полуконсервативная **3**: 45
 -- праймер **3**: 49, 50, 55
 -- репликатор **3**: 64
 -- реплисома **3**: 54
 -- скорость
 --- в бактериях **3**: 50, 52
 --- в эукариотах **3**: 64
 -- терминация **3**: 62, 63
 -- топоизомеразы **3**: 63
 -- точка начала (ориджин)
 ----- в бактериях **3**: 56
 ----- в эукариотах **3**: 64
 -- точность **3**: 50
 -- удлинение цепи **3**: 58
 -- ферменты **3**: 61, 64
 -- фрагменты Оказаки **3**: 48, 59–61, 65
 -- хеликазы **3**: 54, 57–60, 64
 -- через повреждение **3**: 76
 -- эволюционное значение **1**: 54, 55
 Репликация РНК **3**: 144
 -- интроны **3**: 122, 124, 125
 -- обратная транскриптаза **3**: 144–146
 -- ретротранспозоны **3**: 148
 -- РНК-репликаза **3**: 151
 -- саморепликация **1**: 56; **3**: 152
 -- теломеразы **3**: 149, 152
 -- хоминг **3**: 148
 -- эволюционное значение **1**: 56–58; **3**: 152
 Реплисома **3**: 54
 Репрессия **3**: 231
 -- катаболитная **3**: 244
 Репрессоры **3**: 232, 233
 -- *lac* **3**: 235, 236, 244, 245
 -- *trp* **3**: 246–249
 -- в эукариотах **3**: 263, 269, 274
 -- и SOS-ответ **3**: 249, 250
 -- трансляции **3**: 250, 251
 Респираемы **2**: 320
 Респонсивные элементы **2**: 124
 Рестрикции–модификации система **1**: 435
 Ретикулоциты, регуляция трансляции **3**: 269
 Ретиналь полностью *транс* **1**: 34, 511, 652
 -- 11-*цис* **1**: 34, 511, 652
 Ретинобластома **1**: 670
 -- pRb **1**: 665, 670
 Ретиновая кислота **1**: 511; **3**: 267
 Ретиноидные гормоны **3**: 266, 267
 Ретинол (витамин А) **1**: 511
 Ретровирусы **1**: 317; **3**: 144
 -- векторы **1**: 473–476
 -- лекарства **1**: 317
 Ретротранспозоны **3**: 148
 Ретрохормин **3**: 148
 Реутилизации путь **2**: 543, 556
 Рефсума болезнь **2**: 250
 Рецепторные каналы **1**: 579, 639
 Рецепторные киназы **1**: 606, 624, 667, 668
 -- JAK-STAT **1**: 624
 Рецепторные ферменты
 -- гистидинкиназа **1**: 645
 -- гуанилилциклаза **1**: 627, 528
 -- тирозинкиназа **1**: 619, 624, 632
 Рецепторный потенциал **1**: 656
 Рецепторы
 -- ANF **1**: 627, 628
 -- Fas **1**: 673
 -- LRP **2**:
 -- NPY **2**: 607
 -- PYY **2**: 607
 -- Т-клеточный **1**: 250
 -- агонисты **1**: 597
 -- β-адренергические **1**: 597, 598
 -- активируемые пролифераторами пероксисом (PPAR) **2**: 612, 613
 -- антагонисты **1**: 597
 -- в эндцитозе **2**: 490; **3**: 219
 -- глицина **1**: 579, 639, 640
 -- гормонов **2**: 570, 571; **3**: 266, 267
 -- грелина **2**: 614
 -- гуанилина **1**: 627
 -- десенсibilизация **1**: 606
 -- инсулина **1**: 170, 619, 624, 626
 -- как усилители сигнала **2**: 570
 -- каннабиноидов **1**: 622

- лептина **2**: 605, 606, 608, 610
- ЛППП **2**: 490
- меланокортина **2**: 607
- никотиновые ацетилхолиновые **1**: 578, 579
- обонятельные **1**: 656–659
- родопсин **1**: 654, 656
- семиспиральные **1**: 597
- серпентиновые **1**: 597
- сладкого вкуса **1**: 681
- сопряженные с G-белками **1**: 595–610, 650, 658
- родство к лигандам **1**: 592
- стероидов **1**: 509, 643, 644; **2**: 570
- фактора роста тромбоцитов **1**: 624
- эволюционное значение **1**: 658
- эпидермального фактора роста **1**: 595, 624
- мутации **1**: 667
- эритропоэтина **1**: 624, 625
- этилена **1**: 647, 648
- ядерные **1**: 643, 644
- Решеф Леа **2**: 468
- Рибоза **1**: 340, 341, 392
- конформация **1**: 393
- Рибозимы **1**: 411; **3**: 122, 139–142, 154, 182, 200
- Рибозо-5-фосфат **2**: 108, 109, 438
- Рибозо-5-фосфатизомеразы **2**: 412
- Рибозофосфат-пирофосфокиназа **2**: 519
- Рибонуклеаза **1**: 129, 200
- ренатурация **1**: 209
- Рибонуклеиновая кислота, см. РНК
- Рибонуклеозидмонофосфаты циклические **1**: 395
- Рибонуклеотидредуктаза **2**: 550–553
- Рибонуклеотиды **1**: 392–394, 424
- восстановление **2**: 550
- Рибопереключатели **3**: 253, 254
- Рибосомная РНК, см. рРНК
- Рибосомные белки **3**: 180, 250–252
- Рибосомы **3**: 180
- бактериальные **3**: 180–183
- белки **3**: 250–252
- как место синтеза белка **3**: 180
- коррекция ошибок **3**: 202
- образование **3**: 180, 250
- открытие **3**: 169
- полисомы **3**: 204, 205
- рецикл **3**: 203, 204
- сайты связывания аминокислот-тРНК (А, Р и Е) **3**: 197
- структура **3**: 180
- субъединицы **3**: 180, 181
- эукариотические **3**: 183, 184
- Риботимидин **1**: 393
- Рибофураноза **1**: 393
- Рибулоза **1**: 343
- Рибулозо-1,5-бисфосфат **2**: 406–416
- Рибулозо-1,5-бисфосфаткарбоксилаза/оксигеназа, см. Рубиско
- Рибулозо-5-фосфат **2**: 109, 415, 438
- Рибулозо-5-фосфаткиназа **2**: 415, 418
- Ринальдо Пьеро **2**: 295, 296
- Риске Джон **2**: 310
- Риске железо-серный белок **2**: 310, 317
- Рифампицин **3**: 122
- Рицин **3**: 209
- РНК **1**: 33, 53; см. также Нуклеиновые кислоты
- TUF **3**: 157
- аптамеры **3**: 154, 155, 254
- вирусная, см. Ретровирусы; РНК-вирусы
- вторичная структура **1**: 406, 410
- гидролиз **1**: 397
- интерференция **3**: 270
- каталитические **3**: 122, 139–142, 154, 182, 200
- 5'-кэп **3**: 122–124
- малая **3**: 270
- временная **3**: 270
- интерферирующая **3**: 270
- ядерная **3**: 127, 128, 138, 157
- ядрышковая **3**: 135, 136, 157
- матричная, см. мРНК
- микро **3**: 138, 270
- направляющая **3**: 176
- некодирующая **3**: 271
- нуклеотидный состав **1**: 392–395
- оборот **3**: 123
- паразитарная **3**: 155, 156
- прерибосомная, процессинг **3**: 134, 135
- процессинг **3**: 122–143
- в бактериях **3**: 134
- в эукариотах **3**: 122–134
- миРНК **3**: 270
- мРНК, см. мРНК
- мякРНК **3**: 135, 136, 157
- мяРНК **3**: 127, 128, 138, 157
- поли(А)-«хвост» **3**: 130, 142, 156
- полиаденилатполимераза **3**: 130
- полинуклеотидфосфорилаза **3**: 142
- редактирование **3**: 139, 175–177
- рРНК **3**: 134, 135, 183
- сплайсинг **3**: 122, 125
- расщепление **3**: 123, 142
- редактирование **3**: 175, 176
- репликация, см. Репликация РНК
- рибозимы, см. Рибозимы
- рибосомная, см. рРНК
- самореплицирующаяся **1**: 56; **3**: 152
- синтез **3**: 106; см. также Транскрипция
- создание, метод SELEX **3**: 154, 155
- спаривание оснований **1**: 399
- сплайсинг **3**: 122–133
- транскрипты
- первичные **3**: 122, 123
- с неизвестной функцией **3**: 156–158
- сложные **3**: 132
- транспортная, см. тРНК
- трехмерная структура **1**: 408–412
- фосфодиэфирные связи **1**: 396
- цис/транс-механизм регуляции **3**: 252–254
- шпильки **3**: 116, 142, 190, 247, 252, 270
- эволюционная роль **1**: 56, 57
- РНКаза Р **1**: 410; **3**: 134, 136, 138, 141–143
- РНК-вирусы **3**: 144, 270
- РНК-ДНК гибриды, денатурация **1**: 414
- РНК-зависимая ДНК-полимераза **3**: 144, 145, 151
- РНК-зонд **1**: 443
- РНК-полимеразы **3**: 117
- I **3**: 117
- II **3**: 117, 261
- связывание с промотором **3**: 117, 119
- III **3**: 117
- в транскрипции **3**: 106–108
- бактерий **3**: 108, 109
- эукариот **3**: 117–122
- ДНК-зависимая **3**: 108
- ингибиторы **3**: 121, 122
- РНК-зависимая **3**: 151
- связывание с промотором **3**: 231
- факторы специфичности **3**: 232
- РНК-репликаза **3**: 151
- Робертс Ричард **3**: 125
- Родбел Мартин **1**: 598, 600
- Родопсин **1**: 651, 652, 655
- Родопсинкиназа **1**: 654
- Розетки
- гликогена **2**: 155
- целлюлозы **2**: 432, 433
- Розиглитазон (авандия) **2**: 470
- Россмана укладка **2**: 52, 163
- рРНК (рибосомная РНК) **3**: 134, 135, 183
- интроны **3**: 139, 140
- процессинг **3**: 133–136
- синтез **3**: 135

Рубиско 2: 407–410, 417–420

Рубиско-активаза 2: 410

Рэкер Эфраим 2: 331

С

Сазерленд Эрл 2: 160, 165, 166

Сайт-направленный мутагенез 1: 446

Сайт-специфическая рекомбинация
3: 81, 89

Сакситоксин 1: 579

Салициловая кислота 2: 461

Самнер Джеймс 1: 270

Самуэльсон Бенгт 1: 508

Сандхофа болезнь 1: 505

Саркомер 1: 259, 260

Саркоплазматический ретикулум
1: 259, 261, 560, 561

Сателлитная ДНК 3: 13

Саузерн Джереми 1: 454

Саузерн-блоттинг 1: 454, 455

Сахара 1: 69, 339, *см. также* Моно-
сахариды, Полисахариды,
Углеводы

– аминосахара 1: 346

– восстанавливающие 1: 347, 354

– и долинхолы 1: 513

– кислые 1: 346

– невосстанавливающие 1: 347, 354

– нуклеотидные 2: 158–161

– эпимеры 1: 343

Сахарный диабет, *см.* Диабет сахар-
ный

Сахарный код 1: 371, 372

Сахароза 1: 23, 68, 69, 87, 275, 371;
2: 94

– в прорастающих семенах 2: 436,
437

– синтез 2: 426, 428, 429

Сахарозо-6-фосфат 2: 428, 429

Сахарозо-6-фосфатсинтаза 2: 428,
429, 431

Сахарозо-6-фосфатфосфатаза 2: 428,
429

Сахарозосинтаза 2: 433

Сахаронуклеотиды 2: 158, 428

Свертывание крови

– протеолитическая активация
факторов 1: 329

– рекомбинантные продукты 1: 479

– роль интегринов 1: 641, 642

Сверхспирализация ДНК, плотность
3: 16, 19

Свет; *см. также* Зрение; Флуорес-
ценция; Фотосинтез

– как стимул для сигнальной систе-
мы растений 1: 646–650

– плоскополяризованный, вращение
1: 36, 37, 117

– поглощение

– аминокислотами 1: 120

– ДНК 1: 397, 413

– закон Ламберта–Бера 1: 121

– липидными пигментами 1: 514

– флуоресцентными белками
1: 612–614

Светляки, цикл биолюминесценции
2: 39

Световые реакции 2: 358

Светопоглощающие комплексы
2: 361

Светособирающие (антенные) пиг-
менты 2: 362, 365

Светочувствительные нейроны
1: 650

Светящиеся растения 1: 471, 472

Свободная энергия (G) (энергия
Гиббса) 1: 44; 2: 13

– в стабилизации структуры белка
1: 173, 174

– в ферментативном катализе
1: 274, 276, 280

– в фолдинге белка 1: 211, 212

– гидролиза 2: 16

– изменение (ΔG) 1: 44, 47, 48;
2: 14–16

Свободноживущие азотфиксирую-
щие бактерии 2: 510

Свободные жирные кислоты 1: 488,
489; 2: 229; *см. также* Жирные
кислоты

Свободные радикалы 2: 20

– реакции 2: 20–25

Связь; *см. также* Слабые взаимодей-
ствия

– водородная, *см.* Водородная связь

– гликозидная 1: 343

– N-гликозидная 1: 348

– O-гликозидная 1: 348

– расщепление лизоцимом 1: 311,
312

– дисульфидная 1: 120

– расщепление 1: 145

– ковалентная 1: 27

– C–H 2: 21

– O–H 1: 75

– O–P 2: 25, 26

– расщепление 2: 20, 21

– нековалентная 1: 27; *см. также*
Слабые взаимодействия

– пептидная, *см.* Пептидная связь

– расщепление при секвенировании

пептидов 1: 145

– углерода 1: 29, 31, 75; 2: 21–23

– фосфодиэфирная 1: 396

– энергия диссоциации 1: 75

Связывание

– антител 1: 254

– кооперативность 1: 237, 242

– субстрата в активном центре фер-
мента 1: 273

– центры 1: 239 320, 367

– энергия 1: 48, 280, 281

Сдвиг рамки считывания 3: 175

Сегментации гены 3: 273

Седогептулозо-1,7-бисфосфат 2: 415

Седогептулозо-7-фосфат 2: 414, 415

Секвенатор 1: 145

Секвенирование

– белков и пептидов 1: 143–148

– методом масс-спектрометрии
1: 151

– ДНК 1: 420–422, 430

– автоматическое 1: 421, 422

– и определение белковой последо-
вательности 1: 148, 152

– по Сенгеру 1: 144, 420–422

Секретин 2: 264

Селектины 1: 373, 374, 549

Селеноцистеин 1: 123; 3: 191

Семенники 2: 575

Семиспиральные рецепторы 1: 597

Сенгер Фредерик 1: 143, 145, 168,
169, 419

Сердечная мышца 2: 589, 590

– изоферменты ЛДГ 2: 140, 141

Сердечно-сосудистые заболевания

– амилоидозы 1: 215

– антикоагулянты 1: 479

– атеросклероз 2: 493–495

– гликогенозы 2: 159

– как осложнение диабета 1: 348

– нитросоединения 1: 628

– приступы 2: 141, 344, 463

– роль *транс*-жирных кислот
1: 493, 494

– статины 2: 494

Серин 1: 120

– биосинтез 2: 326, 519, 521

– в активности транспептидазы
1: 314

– в активности химотрипсина 1: 303

– в гликолатном пути 2: 421, 422

– в протеогликанах 1: 364

– в синтезе липидов 2: 472–478

– расщепление до пирувата 2: 285

– фосфорилирование 1: 325

– циклосерин 2: 538

Серингидроксиметилтрансфераза

2: 285, 288, 421, 423, 519, 554

Сериндегидратаза 2: 285

- Сериновые протеазы **1**: 303
 Сероводород **1**: 79
 Серотонин **1**: 500, 647; **2**: 290, 539
 – рецепторы **1**: 579, 608
 Серповидно-клеточная анемия
1: 246–248
 Сестринские хроматиды **3**: 82, 83
 Сетчатка **1**: 650–652, 655
 – колбочки **1**: 651, 652, 655
 – палочки **1**: 651, 652
 Сиалоадгезин **1**: 376
 Сиаловая кислота **1**: 347
 – в ганглиозидах **1**: 502, 503, 531
 Сигнал-распознающая частица
 (SRP) **3**: 211, 212
 Сигнальная последовательность
3: 131, 206, 210–212
 – бактериальных белков **3**: 217, 218
 – инсулина **2**: 572, 573
 – ядерных белков **3**: 216
 Сигнальные белки **1**: 629–632
 Сигнальные системы **1**: 591–672
 – в микроорганизмах **1**: 644, 645
 – в нейроэндокринной системе
2: 566
 – в протеолизе **3**: 221
 – в растениях **1**: 509; 646–650;
2: 463
 – в регуляции генов эукариот **3**: 266
 – в регуляции клеточного цикла
1: 660–665
 – гормональные **2**: 566, 570, 571
 – гормональные каскады **2**: 570
 – зрение, обоняние и вкус
1: 650–659
 – ионные каналы **1**: 633
 – кавеолы **1**: 632
 – лиганд-рецепторные взаимодей-
 ствия **1**: 592–594
 – механизмы **1**: 595, 596
 – рафты **1**: 632
 – роль липидов **1**: 506–514
 – роль углеводов **1**: 33, 363, 375
 – роль фосфатидилинозита **1**: 622;
2: 507
 – роль эйкозаноидов **2**: 508
 – стероидные гормоны **1**: 643, 644
 – ферментативные каскады **1**: 592
 – функция инсулина **2**: 149, 151
 – функция лептина **2**: 606, 609, 610
 Силденафил (виагра) **1**: 628
 Симбиоз
 – в фиксации азота **2**: 513
 – в эволюции митохондрий **2**: 352
 – в эволюции хлоропластов **2**: 386
 Симбионты **2**: 6, 510
 Симвастатин (зокор) **2**: 494
 Симметричная модель, см. Модель
 Моно–Уаймена–Шанже
 Симметрия в белках
 – вращательная (поворотная)
1: 206, 207
 – икосаэдрическая **1**: 207
 – спиральная (винтовая) **1**: 207
 Симпорт **1**: 558
 – Na⁺/глюкоза **1**: 569, 570
 Синапс
 – передача сигнала **1**: 635, 636
 – слияние мембран **1**: 548
 Синдекан **1**: 364, 365
 Синдром X (метаболический син-
 дром) **2**: 615
 Синий флуоресцентный белок
 (BFP) **1**: 613–615
 Синтаза **2**: 197
 – NO **2**: 576
 – жирных кислот **2**: 150, 447–453
 Синтения **1**: 462
 Синтетазы **2**: 197
 α-Синуклеин **1**: 217
 Системная биология **1**: 462
 Ситостерол **2**: 433
 Сквален **2**: 480–484
 Сквален-2,3-эпоксид **2**: 483, 484
 Скваленмонооксигеназа **2**: 483, 484
 Скользящий зажим **3**: 60, 61
 Скорость реакции
 – константа (*k*) **1**: 229, 277
 – лимитирующая стадия **1**: 287, 290,
 291
 – уравнение **1**: 277, 292
 Скоу Йенс **1**: 562
 Скрамблаза **1**: 540, 541
 Скрепи (почесуха) **1**: 217
 Скэтчарда анализ **1**: 592–594
 Слабые взаимодействия **1**: 73–84
 – в стабилизации белков **1**: 172,
 173, 210
 – в структуре полисахаридов **1**: 356
 – между ферментом и субстратом
1: 277, 279, 280, 282
 Слабые кислоты **1**: 93–96
 – в составе буферов **1**: 98
 Слабые основания **1**: 93–96
 Слай Уильям **2**: 295
 Следовые элементы **1**: 29
 Сложноэфирная конденсация Кляй-
 зена **2**: 22, 23
 β-Слои **1**: 181
 – в крупных глобулярных белках
1: 201
 – скрученные **1**: 201
 Слэк Роджер **2**: 424
 Смешанное ингибирование **1**: 295–298
 Смит Хамилтон **1**: 436
 Соленоидная спираль **3**: 25, 26
 Солнечная энергия **2**: 357–363
 Сольватная оболочка **1**: 173
 Соматостатин **2**: 572, 595
 Сопряженные с G-белками рецептор-
 ные киназы (GRK) **1**: 606, 607
 Сорафениб (нексавар) **1**: 669
 Сорбоза **1**: 343
 Сосудистые растения **1**: 32, 646
 Спаривание оснований
 – аномалии **3**: 51, 68
 – ДНК **1**: 9, 402
 – ДНК–РНК **1**: 409
 – кодонов и антикодонов **3**: 174
 – при ДНК-белковых взаимодей-
 ствиях **3**: 237, 238
 – при репликации **3**: 51
 – РНК–РНК **3**: 139
 – тРНК **3**: 185
 Спектрин **1**: 542, 543
 Спектрофотометрия **1**: 121
 Сперматозоидное масло **1**: 493
 Спермидин **2**: 540, 542, 543
 Спермин **2**: 540, 542, 543
 Специфический кислотно-основной
 катализ **1**: 284
 Специфичности константа (k_{cat}/K_M)
1: 292
 СПИД, см. Вирус иммунодефицита
 человека
 Спираль
 – α **1**: 177, 178, 200
 – актина **1**: 258
 – в мембранных белках **1**: 531–533,
 561, 564–568, 572
 – в полисахаридах **1**: 354, 358
 – в трансмембранных каналах **1**: 552,
 553, 576
 – двойная ДНК **1**: 52, 399–402
 – α-кератина **1**: 185, 186
 – миоглобина **1**: 194, 195
 – миозина **1**: 257
 – РНК **1**: 409, 410
 – родопсина **1**: 652
 – суперскрученная ДНК **1**: 186
 – в транскрипции **3**: 107
 – варианты **1**: 404, 405
 – раскручивание **1**: 413
 – тройная коллагена **1**: 187, 188, 190
 Спираль–петля–спираль мотив
1: 616; **3**: 242
 Спираль–поворот–спираль мотив
3: 239, 240
 Спирты
 – в экстракции липидов **1**: 515
 – и полуацетали **1**: 343, 344

– и полукетаи **1**: 343, 344
 – ферментация **2**: 69, 93, 94
 Сплайнс **3**: 122–133
 Сплайсосома **3**: 127
 Сплайсосомные интроны **3**: 127
 Спудич Джеймс **1**: 267
 Сравнительная геномика **1**: 462, 467
 Сталь Франклин **3**:
 Стандартное изменение свободной энергии (ΔG°) **1**: 274; **2**: 15
 ---- аддитивность **2**: 18, 19
 ---- гидролиза АТФ **2**: 29
 ---- гликолиза **2**: 70, 98
 ---- зависимость от концентрации **2**: 17
 ---- переноса электронов **2**: 322
 ---- расчет **2**: 16
 ---- связь с константой равновесия **1**: 276; **2**: 14, 15
 Стандартные приведенные параметры **2**: 15
 Стандартные условия **2**: 15
 Стандартный восстановительный потенциал (E°) **2**: 47, 48
 Старение
 – и митохондриальная ДНК **2**: 346
 – и теломеры **3**: 151
 Стартовый колон **3**: 195, 196
 Стадины **2**: 493, 494
 Стационарная кинетика **1**: 287–294
 Стационарное состояние **1**: 287
 -- клеточного роста **2**: 123
 Стеарат **2**: 457, 458
 Стеариновая кислота **1**: 490
 Стекинг-взаимодействия **1**: 398, 409, 413
 -- при репликации **3**: 50
 Стенокардия, прием вазодилаторов **1**: 628
 Стереизомеры **1**: 33–40
 – аминокислот **1**: 115–118
 – липидов **1**: 497
 – сахаров **1**: 340–344
 Стерины **1**: 504
 – в мембранах **1**: 496
 – как липидные якоря **1**: 527, 532, 545
 Стероидные гормоны **1**: 509
 -- регуляция транскрипции **1**: 643
 -- роль митохондрий **2**: 348
 -- синтез **2**: 495, 574
 Стероиды **1**: 509
 – синтез **2**: 480–485
 Стоп-кодны **3**: 170
 Стрептомицин **3**: 209
 Стресс
 – окислительный **2**: 324
 -- и малярия **2**: 107

– функция адреналина **2**: 602
 – функция кортизола **2**: 602
 Строма **2**: 359
 Стронг Фрэнк **2**: 53
 Субстрат **1**: 226
 – инсулинового рецептора **1**: 624
 --- IRS-1 **1**: 619, 622; **2**: 170
 --- IRS-2 **2**: 610
 – туннелирование **2**: 187
 Субстратный цикл **2**: 140
 Судебная медицина, анализ ДНК **1**: 454, 455
 Суицидный ингибитор **1**: 298
 Сукцинат **2**: 188, 189
 – в глиоксилатном цикле **2**: 212
 – окисление до фумарата **2**: 198
 Сукцинатдегидрогеназа **2**: 198, 211
 Сукцинаттиокиназа **2**: 196, 197
 Сукцинил-КоА
 – в распаде аминокислот **2**: 279
 – превращение в сукцинат **2**: 196
 Сукцинил-КоА-синтетаза, см. Сукцинаттиокиназа
 Сульфатирование, в протеогликанах **1**: 360, 361, 364, 365
 Сульфодезокси- α -D-глюкопиранозидиацилглицерин **1**: 499, 500
 Сульфолипиды **1**: 496, 500
 Сульфонилмочевина **2**: 597, 617
 Сунитиниб (сутент) **1**: 669
 Супероксиддисмутаза **2**: 326
 Супероксидный радикал **2**: 106, 316
 Суперспираль
 – ДНК, см. ДНК, сверхспирализация
 – α -кератина **1**: 185, 186
 – коллагена **1**: 187, 188
 Супрессорная тРНК **3**: 203
 Сутент (сунитиниб) **1**: 669
 Сфинганин **2**: 476, 478
 Сфингозин **1**: 501, 502
 Сфинголипиды **1**: 496, 501, 503
 – расщепление **1**: 503, 505
 – синтез **2**: 478
 Сфингомиелин **1**: 502, 505, 506; **2**: 476
 – распределение в мембране **1**: 528–546
 Сфингомиелиназа **1**: 505
 Сывороточный альбумин **2**: 229, 230, 592
 Сывороточный амилоид А **1**: 215

Т

Табачной мозаики вирус **1**: 207
 Тагатога **1**: 342
 Талоза **1**: 342
 Тамифлю (осельтамивир) **1**: 374

Тамоксифен **1**: 644
 Тандемная масс-спектрометрия **1**: 150, 151
 Таруи болезнь **2**: 159
 Тарцева (эрлотиниб) **1**: 669
 Таурохолевая кислота **1**: 506
 Тейтем Эдвард Л. **2**: 193; **3**: 8
 Теломераза **3**: 149–151
 Теломеры **3**: 14, 15, 149–151
 Темин Говард **3**: 144, 145
 Температура абсолютная, размерность **2**: 13
 Температура кипения
 -- воды **1**: 74
 -- некоторых растворителей **1**: 74, 76
 Тепло, образование см. Термогенез
 Теплового шока белки
 --- в фолдинге **1**: 167, 212
 --- промоторы генов **3**: 115, 232
 Теплота испарения **1**: 74
 -- воды **1**: 74, 76
 Терминальная трансфераза **1**: 435
 Терминальный комплекс, в целлюлозе **2**: 432
 Терминаторы транскрипции **3**: 116, 247–249
 Терминация транскрипции
 – р-зависимая **3**: 117
 – р-независимая **3**: 116, 142
 Термиты **1**: 355
 Термогенез **2**: 325, 586
 – в митохондриях **2**: 348
 – сократительный **2**: 589
 Термогенин **2**: 348, 586
 Термодинамика
 – второй закон **1**: 551; **2**: 12
 – и биоэнергетика **2**: 12–19
 – первый закон **1**: 41; **2**: 12
 – предотвращение рассеивания энергии **2**: 371
 Тест на толерантность к глюкозе **2**: 604
 Тестостерон **1**: 509; **2**: 495, 575
 Тетрагидриобиптерин **2**: 284, 292
 – в реакции фенилаланин-гидроксилазы **2**: 291
 Тетрагидроканнабинол **1**: 622
 Тетрагидрофолат **2**: 281, 282, 517, 554
 – связывание с ферментом **1**: 278
 Тетрадекановая кислота **1**: 488
 Тетракозановая кислота **1**: 488
 Тетрануклеотидная гипотеза, опровержение **1**: 432
 Тетраплексная ДНК **1**: 406, 407
 Тетрациклины **3**: 208, 209
 Тетродотоксин **1**: 640

- Тетрозы **1**: 341
 Тея-Сакса болезнь **1**: 505
 Тиазолидиндионы **2**: 469, 470
 Тиаминпирофосфат **2**: 93, 112, 183
 – в цикле Кальвина **2**: 413
 Тилакоиды **2**: 358, 359
 – поток протонов и электронов **2**: 367–385
 Тимидилат, биосинтез **2**: 554, 558, 559
 Тимидилатсинтаза **2**: 554, 559
 Тимин **1**: 392
 – эволюционное значение **1**: 416, 417
 Тиолаза **2**: 235, 252, 253, 480
 Тиоредоксин **2**: 419, 550, 551
 Тиоредоксинредуктаза **2**: 419, 550, 551
 4-Тиоуридин **1**: 395
 Тиоэфиры **2**: 34, 183
 – свободная энергия гидролиза **2**: 35
 Типирование ДНК **1**: 454–456
 Тиреоглобулин **2**: 575
 Тиреоидные гормоны **2**: 571, 575
 Тиреотропин-высвобождающий гормон **2**: 567
 Тиреотропный гормон (ТТГ) **1**: 130
 Тирозин **1**: 118; **2**: 280
 – биосинтез **2**: 523–529
 – в мембранных белках **1**: 535, 536
 – в синтезе гормонов **2**: 574, 575
 – поглощение света **1**: 120
 – расщепление **2**: 280
 – фосфорилированный **1**: 608
 – в регуляции клеточного цикла **1**: 662
 Тирозиназа **2**: 287
 Тирозинкиназы
 – как мишени для противоопухолевой терапии **1**: 667–669; **2**: 81, 82
 – растворимые **1**: 624, 625
 – рецепторные **1**: 595, 619–624
 Тирозиновый радикал **2**: 551–553
 Тироксин (Т4) **2**: 575
 Титин **1**: 130, 260
 Титрование
 – аминокислот **1**: 123–126
 – кривая **1**: 94
 – пептидов **1**: 128, 129
 – слабых кислот **1**: 95, 97
 – уравнение Хендерсона-Хассельбаха **1**: 98
 Токоферолы **1**: 512
 Токсины **1**: 579, 581, 640
 – ингибирование трансляции **3**: 207–209
 Толбутамид **2**: 597
 Толстые филаменты **1**: 258
 Тонкие филаменты **1**: 258
 Тонкий кишечник, всасывание жиров **2**: 226, 227
 Тонкослойная хроматография **1**: 169, 515–517
 Топоизомеразы **3**: 23, 54, 61, 63
 – ингибиторы **3**: 24, 35
 Топоизомеры **3**: 20, 21
 Топология **3**: 16, 18
 Топотекан **3**: 25
 Торсионный угол **1**: 176, 177, 357
 Точка начала репликации (*oriC*) **3**: 44, 46, 48, 56, 58, 64, 65
 Трансальдолаза **2**: 111
 – в цикле Кальвина **2**: 412, 413
 Трансаминаза **2**: 266
 Трансаминирование **2**: 266
 Трансгенная мышь **1**: 477
 Трансдезаминирование **2**: 270
 Трансдукция **1**: 652, 653
 Транс-жирные кислоты **1**: 493, 494
 Транскетолаза **2**: 111, 112
 – в цикле Кальвина **2**: 412–415
 – дефект при синдроме Вернике-Корсакова **2**: 112
 Транс-конфигурация пептидной связи **1**: 176, 182
 Транскрипт
 – первичный **3**: 122, 123
 – сложный **3**: 132
 – сплайсинг **3**: 122–133
 Транскриптом **2**: 126; **3**: 106, 156–158
 Транскрипционные факторы **2**: 124; 150–152; **3**: 120
 – основные **3**: 120
 Транскрипционный профиль **1**: 466
 Транскрипционный пузырь **3**: 106–108
 Транскрипция **1**: 408, 409; **3**: 105
 – активаторы **3**: 232
 – аттенуация **3**: 245–249
 – ингибирование лекарствами **3**: 121, 122
 – инициация **3**: 112–115, 232–234
 – интронов **3**: 131
 – корректирующая активность **3**: 110
 – обратная **1**: 317; **3**: 144
 – промоторы **3**: 110, 112, 260
 – регуляция
 – в бактериях **3**: 234–236
 – в эукариотах **3**: 257–263, 271
 – отрицательная **3**: 232, 233, 235
 – положительная **3**: 232, 233
 – репрессоры **3**: 232
 – стероидными гормонами **1**: 643
 – сопряжение с трансляцией **3**: 204, 205
 – терминация **3**: 116
 Транслокация
 – в перемещении белка **3**: 212, 218
 – в синтезе белка **3**: 200, 201
 Трансляция **3**: 179–181
 – регуляция **3**: 250, 268
 – репрессия **3**: 250, 268
 – сдвиг рамки **3**: 175
 – сопряжение с транскрипцией **3**: 204, 205
 – стадии **3**: 179, 181
 Транспептидаза **1**: 314, 315
 Транспозиция **3**: 94
 – прямая **3**: 95
 – репликативная **3**: 95
 Транспозоны **1**: 460; **3**: 94
 – инсерционные последовательности **3**: 95
 – сложные **3**: 94
 Транспортёры **1**: 552, 553; *см. также* Ионные каналы; Переносчики
 Транспортная РНК, *см.* тРНК
 Транспортные везикулы **1**: 375
 – доставка белков **3**: 214, 215
 – доставка липидов **2**: 265
 Трансферрин **2**: 193
 – рецепторы **2**: 193, 194
 Трансформация, при клонировании **1**: 439, 449
 Трансфосфорилирование, в нуклеотидах **2**: 40
 Трастузумаб (герцептин) **1**: 669
 Трегалоза **1**: 351
 Треоза **1**: 342
 Треонин **1**: 114, 120; **2**: 523
 – биосинтез **2**: 523
 – превращение в пропионил-СoA **2**: 295
 – превращение в сукцинил-СoA **2**: 294
 – расщепление до пирувата **2**: 285, 288
 – фосфорилированный **1**: 632
 Треониндегидрогеназа **1**: 291
 – ингибирование **1**: 321; **2**: 531
 Треонинсинтаза **2**: 524, 525
 Триацилглицеринлипаза **2**: 586
 Триацилглицерины **1**: 491, 492; **2**: 584; *см. также* Жирные кислоты
 – в прорастающих семенах **2**: 247
 – всасывание **2**: 226–228
 – гормональная мобилизация **2**: 228, 229
 – запасание в адипоцитах **2**: 585, 586
 – накопление при ожирении **2**: 615–617
 – реутилизация **2**: 466, 467
 – синтез **2**: 464–469

– содержание в организме **2**: 600
 – транспорт **2**: 485–487
 – цикл **2**: 467
 Триглицериды, см. Триацилглицерины
 Триодтиронин (ТЗ) **2**: 575
 Трикарбоновых кислот цикл (цикл лимонной кислоты, цикл Кребса) **2**: 181
 Триметоприм **2**: 558, 560
 Триозокиназа **2**: 89
 Триозофосфатизомераза **1**: 281; **2**: 58, 75, 89, 112, 195, 411
 Триозофосфаты
 – антипорт **2**: 416–418
 – в цикле Кальвина **2**: 406–416
 – взаимные превращения **2**: 412
 – превращение в сахарозу/крахмал **2**: 426–430
 – синтез **2**: 410–415
 Триозы **1**: 340, 341
 Трипаносомоз (африканская сонная болезнь) **1**: 541, 542
 Триплетный код **3**: 167–171
 Трипсин **1**: 102, 146, 257, 272; **2**: 264
 – ингибитор **1**: 328; **2**: 264
 – синтез **1**: 328, 329
 – фрагменты **1**: 147
 Трипсиноген **1**: 328, 329; **2**: 264
 Триптофан **1**: 69, 116, 118
 – биосинтез **2**: 523, 527, 528
 – в гидрофобных взаимодействиях **1**: 377
 – в мембранных белках **1**: 535, 536
 – поглощение света **1**: 120
 – расщепление до ацетил-СоА **2**: 288–290
 – расщепление до пирувата **2**: 285
 Триптофансинтаза **2**: 527, 528
 Трисахаридный мостик **1**: 364–366
 Трихроматы **1**: 656
 тРНК (транспортная РНК) **1**: 391; **3**: 136
 – D-плечо **3**: 184
 – ТψС-плечо **3**: 185
 – аминокислотное плечо **3**: 184
 – антикодоновое плечо **3**: 184
 – в трансляции **3**: 185
 – минорные основания **1**: 395
 – процессинг **3**: 137
 – спаривание с мРНК **3**: 136
 – структура **1**: 411; **3**: 184–186
 – супрессоры **3**: 203
 Тройная связь углерода **1**: 29, 31

Тройная спираль
 – ДНК **1**: 407
 – коллагена **1**: 187–192
 Тройной комплекс, в двухсубстратной реакции **1**: 293, 294
 Тромбин **1**: 329, 361
 Тромбоз
 – протеолиз **1**: 329
 – селектины **1**: 373, 374
 Тромбоксансинтаза **2**: 463
 Тромбоксаны **1**: 507–509
 – синтез **2**: 461–463
 Тромбоциты **2**: 592
 – интегрины **1**: 642
 – фактор активации **1**: 499; **2**: 476
 – фактор роста (PDGF) **1**: 624
 Тропные гормоны **2**: 576
 Тропоколлаген **1**: 188
 Тропомииозин **1**: 258, 261
 Тропонин **1**: 258, 261, 614
 Тубокурарин **1**: 581
 Тудикун Йохан **1**: 501, 503, 523
 Туникамидин **3**: 213, 214
 Тупые концы **1**: 437, 438
 Тяжелая цепь
 – иммуноглобулина **1**: 251, 252
 – рекомбинация **3**: 97
 – миозина **1**: 257
 Тяжелый комбинированный иммунодефицит **1**: 475

У

Уаймен Джеффри **1**: 242
 Убиквитин **1**: 323, 662, 663; **3**: 220–222
 – в протеолизе **3**: 221, 222
 Убихинон (кофермент Q) **1**: 512, 513; **2**: 309, 313–318
 Убихинон: цитохром-с-оксидоредуктаза **2**: 313, 318
 Углеводы **1**: 339–381; см. также Дисахариды; Моносахариды; Олигосахариды; Полисахариды
 – анализ **1**: 379–381
 – активация долихолами **1**: 513
 – гликоконъюгаты **1**: 363–370
 – гликолиз **2**: 66–84
 – код сахаров **1**: 371
 – метаболизм **66–112**
 – анаболизм **2**: 581
 – в печени **2**: 172, 581, 582
 – в растениях и бактериях **2**: 403–445
 – катаболизм **2**: 581
 – метаболический контроль **2**: 137, 138
 – при сахарном диабете **2**: 84, 85

– регуляция **2**: 105, 112, 139–152
 – аллостерическая и гормональная **2**: 170–173
 – на уровне экспрессии генов **2**: 149–152
 – ферменты **2**: 124–127
 – номенклатура **1**: 339–343
 – окисление **1**: 347
 – связывание с лектинами **1**: 372–378
 – синтез, см. также Глюконеогенез
 – С₄-путь **2**: 420–426
 – гликолатный путь **2**: 421, 422
 – интеграция процессов **2**: 435–438
 – крахмала **2**: 426–428
 – пентозофосфатный путь **2**: 107–112, 438
 – пептидогликанов **2**: 433–435
 – сахарозы **2**: 428–430
 – фотодыхание **2**: 420, 421
 – фотосинтез **2**: 404–419
 – целлюлозы **2**: 431–433
 – формулы Фишера **1**: 341
 – химический синтез **1**: 381
 Углерод
 – аномерный **1**: 344
 – асимметрический **1**: 35, 341
 – окисление **2**: 21, 26, 27, 45
 Углеродная связь **1**: 29–31
 – гидролиз **2**: 32, 33
 – реакции **2**: 20–24
 Уилкинс Морис **1**: 400, 401
 Уинтерс Стефен **1**: 313
 Уксусная кислота **1**: 93–95; **2**: 116
 – рK_a **1**: 95
 – в буферной системе **1**: 97
 – кривая титрования **1**: 95
 Унипорт **1**: 558
 Уокер Э. Джон **2**: 333, 334
 Уоррен Дж. Робин **1**: 374
 Уотсон Джеймс Д. **1**: 9, 142, 400–405, 457; **3**: 45, 50
 Уотсона–Крика правило спаривания оснований **3**: 108
 Уратоксидаза **2**: 556
 Урацил **1**: 392, 393
 – дезаминирование цитозина **1**: 416
 – при заболеваниях **2**: 554
 – таутомерные формы **1**: 397, 398
 Урацил-ДНК-гликозилаза **3**: 72
 Уреотелические организмы **2**: 273
 Уридилат **1**: 393
 Уридилирование **2**: 516
 Уридилилтрансфераза **2**: 515, 516
 Уридин **1**: 393
 Уридин-5'-монофосфат (UMP) **1**: 394; **2**: 547
 Уридиндифосфат (UDP) **2**: 89, 435

Урикогелические организмы 2: 273
 Уроновая кислота 1: 347
 -- в гликозаминогликанах 1: 360, 361
 Уротензин II 1: 478
 Усай Бернардо 2: 160
 Усиление сигнала 1: 575, 592, 604, 606, 618, 626, 659

Ф

Фабри болезнь 1: 505
 Фаг λ , как вектор 1: 438, 440, 441; 3: 92
 Фагоцитоз 1: 253
 Фактор роста сосудистого эпителия, рецептор 1: 624, 667
 Факторы высвобождения (терминации) 3: 202–204
 Факторы обмена гуаниновых нуклеотидов (GEF) 1: 601
 Факторы роста 1: 664, 666–668
 Факторы специфичности 3: 114, 115, 232
 Фанкони–Бикель болезнь 2: 159
 Фарадея постоянная 1: 559; 2: 13, 47
 Фелинга реакция 1: 347, 348
 Фенилаланин 1: 78, 116, 118; 2: 291
 – биосинтез 2: 518, 523, 528, 529
 – катаболизм 2: 280, 288
 – тРНК 1: 411
 Фенилаланингидроксилаза 2: 287, 291, 528
 Фенилацетат 2: 279, 291, 292
 Фенилацетил-CoA 2: 279
 Фенилацетилглютамин 2: 279
 Фенилкетонурия 2: 287, 291
 – скрининг у новорожденных 2: 292
 Фенилпируват 2: 291, 292
 Фенотип 3: 8
 Феофитин 2: 367–371
 Феофитин-хиноновая система 2: 367–371
 Ферментативная кинетика 1: 285
 -- двухсубстратных реакций 1: 293, 294
 -- для регуляторных ферментов 1: 319–322
 -- зависимость от pH 1: 299, 303
 -- константа Михаэлиса 1: 288, 290
 -- лимитирующая стадия 1: 275
 -- максимальная скорость 1: 285, 290
 -- начальная скорость 1: 285, 289
 -- переходное состояние 1: 274, 306, 307

-- предстационарная 1: 287, 294, 302
 -- стационарная 1: 287, 294
 -- уравнивание скорости реакции 1: 276, 287
 -- уравнение Михаэлиса–Ментен 1: 288
 ---- преобразования 1: 289, 290
 Ферментативные реакции 1: 300–330
 -- второго порядка 1: 229
 -- двухсубстратные 1: 293
 -- ингибирование 1: 295–299; см. также Ингибиторы ферментов
 --- по принципу обратной связи 1: 321
 --- суицидными ингибиторами 1: 298
 -- интермедиаты 1: 275
 -- константа диссоциации 1: 290
 -- константа скорости 1: 276
 -- координата реакции 1: 274
 -- лимитирующая стадия 1: 275
 -- механизм
 --- гексокиназы 1: 308, 309
 --- ензимы 1: 309, 310
 --- катализа ионами металлов 1: 284, 309, 310
 --- кислотно-основного катализа 1: 283, 284
 --- ковалентного катализа 1: 284
 --- лизоцима 1: 310–313
 --- пинг-понг 1: 293, 294
 --- Филлипса, для лизоцима 1: 312, 313
 --- хомотрипсина 1: 301–305
 -- основное состояние 1: 274
 -- первого порядка 1: 229
 -- переходное состояние 1: 274
 -- предстационарное состояние 1: 287, 294
 -- принципы катализа 1: 277–281
 -- равновесие 1: 276
 --- константа 1: 276
 -- разрушение сольватной оболочки 1: 282
 -- скорость 1: 274
 --- максимальная 1: 286
 --- начальная 1: 286
 -- уменьшение энтропии 1: 282
 -- стационарное состояние 1: 287
 -- уравнение скорости 1: 276
 -- энергия активации 1: 274, 275, 280
 -- энергия связывания 1: 277, 280
 Ферментативный каскад 1: 592
 -- MAPK 1: 619–621
 -- в растениях 1: 648, 649

Ферментация (брожение) 2: 66, 96
 – в пивоварении 2: 93
 – молочнокислое брожение 2: 69, 91, 581
 – полезные продукты 2: 96
 – производство спирта 2: 65, 69, 93
 Фермент-субстратный комплекс 1: 278, 280, 285–287
 -- индуцированное соответствие 1: 282
 -- ковалентные/нековалентные взаимодействия 1: 277
 Ферменты 1: 270–330
 – активность 1: 140; 2: 125
 -- удельная 1: 140
 – активный (каталитический) центр 1: 226, 273
 -- комплементарность переходному состоянию 1: 278, 279, 306, 307
 – аллостерические 1: 319–323
 – апоферменты 1: 272
 – зимогены 1: 328
 – классификация 1: 272
 – кофакторы 1: 271
 – коферменты 1: 271
 – коэффициент управления 2: 135, 136
 – нитрогеназного комплекса 2: 510, 511
 – очистка 1: 132–140
 – печени 2: 579
 – пируватдегидрогеназного комплекса 2: 183, 184
 – простетические группы 1: 271
 – протеолитические, активация 1: 328, 329
 – проферменты 1: 328
 – регуляторные 1: 319
 -- аллостерические 1: 319–323
 -- гомотропные 1: 320
 -- регуляция 1: 319–330
 -- и состояние равновесия 2: 128
 -- ковалентная модификация 1: 323–328
 -- на уровне экспрессии генов 2: 124–126
 -- протеолитическое расщепление 1: 328, 329
 -- фосфорилирование 1: 322–328
 – рестрикционные, см. Эндонуклеазы рестрикции
 – рецепторные, см. Рецепторные ферменты
 – специфичность 1: 281
 -- коэффициент 1: 292
 – субстраты 1: 226, 273

- холоферменты 1: 271
- число оборотов 1: 291
- эластичность 2: 134
- Ферредоксин Fd 2: 48, 311, 374, 375, 419
- Ферредоксин-NADP⁺-оксидоредуктаза 2: 374, 378
- Ферредоксин-тиоредоксинредуктаза 2: 419
- Ферритин 2: 193, 194
- Фибриллярные белки 1: 185–192
 - α-кератин 1: 185–187
 - коллаген 1: 187–192
 - фиброин 1: 192
- Фибрин 1: 192
- Фибриноген 1: 329, 512
- Фибробласты, фактор роста (ФРФ) 1: 361, 365, 624
- Фиброин шелка 1: 192
- Фибронектин, и протеогликаны 1: 359, 367, 549
- Фикобилин 2: 361, 362
- Фикобилипротеин 2: 361
- Фикобилисома 2: 364
- Фикоцианобилин 2: 361–364
- Фикоэритробилин 2: 361–364
- Фиксация азота 2: 6, 510
 - бактерией *Azotobacter vinelandii* 2: 512
- Фиксация углерода 2: 358, 406, 407; см. также Диоксид углерода, ассимиляция
- Филаменты цитоскелета 1: 24
- Филлипс Дэвид 1: 310
- Филлипса механизм 1: 312, 313
- Филлохинон (витамин K₁) 1: 512; 2: 374, 375
- Фитановая кислота, α-окисление 2: 250
- Фитол 2: 361
- Фишер Эмиль 1: 117, 225, 278
- Фишера проекционные формулы 1: 341, 344
- Флавинадениндинуклеотид, см. FAD
- Флавинмоноклеотид, см. FMN
- Флавиновые нуклеотиды 2: 48, 54, 55, 308
- Флаводоксин 2: 511, 512
- Флавопиридол 1: 669
- Флавопротеины 2: 55, 308, 314
 - электронпереносный (ЭПФ) 2: 314
- Флиппазы 1: 540, 541
- Флип-флоп диффузия 1: 540
- Флоппазы 1: 540, 541
- Флуоресцентный резонансный перенос энергии (FRET) 1: 609, 613–615
- Флуоресценция 2: 361
 - FRAP 1: 541, 542
 - FRET 1: 613–615
- Фолат
 - H₄, см. Тетрагидрофолат
 - метаболизм, в химиотерапии 2: 558
 - недостаточность 2: 284
- Фолдинг белка 1: 200–215; 3: 179, 180
 - *in vitro* 1: 440, 442
 - белковые домены 1: 200
 - мотивы 1: 200–202
 - нарушения 1: 215–218
 - парадокс Левинтала 1: 210
 - правила 1: 201
 - расплавленная глобула 1: 211
 - роль дисульфидизомеразы 1: 213
 - супервторичная структура 1: 200
 - термодинамика 1: 211, 212
 - шаперонины 1: 212–214
 - шапероны 1: 212–214
- Форболовые эфиры 1: 611
- Форбса (Кори) болезнь 2: 159
- Формальдегид 2: 45
- N-Формилметионин 3: 195, 196, 200
 - посттрансляционные модификации 3: 206
- N-Формилметионин-тРНК 3: 195, 196
- Фосфагены 2: 42
- Фосфат
 - в качестве буфера 1: 93, 95, 97
 - в нуклеотидах 1: 392, 394
 - неорганический
 - в окислении глюкозы 1: 46
 - в синтезе крахмала 2: 427–430
 - в фотосинтезе 2: 415–417
- Фосфатаза 2: 197
 - фосфорилазы *a* (фосфопротеин-фосфатаза-1) 2: 127, 167, 168, 170
- Фосфатидилглицерин 1: 527, 533; 2: 472
- Фосфатидилинозит 1: 507, 527, 530; 2: 472, 474
- Фосфатидилинозит-3,4,5-трифосфат 1: 507, 622; 2: 170
- Фосфатидилинозит-4,5-бисфосфат 1: 507, 609, 622; 2: 170
- Фосфатидилинозиткиназа 2: 170, 472
- Фосфатидилинозитная система 1: 610
- Фосфатидилсерин 1: 497, 530, 541; 2: 475
- Фосфатидилсеринсинтаза 2: 475
- Фосфатидилхолин (лецитин) 1: 78, 497, 502, 527; 2: 461, 472, 474, 475, 478
- Фосфатидилэтаноламин 1: 497, 530; 2: 472, 474–476
- Фосфатидная кислота 1: 497; 2: 465, 471
 - фосфатаза 2: 465
- Фосфатная связь, энергетическое содержание 2: 35, 36
- Фосфаттранслоказа 2: 159, 340
- Фосфоангидридная связь 1: 44, 45, 104, 425
- Фосфогексоизомеразы 2: 24, 430
- 2-Фосфогликолат 2: 420–422
- 2-Фосфоглицерат 1: 309, 310; 2: 78, 79, 98, 104
- 3-Фосфоглицерат 2: 33, 76, 78, 98, 104
 - в фиксации углерода 2: 406–418
- 3-Фосфоглицераткиназа 2: 76, 411
- Фосфоглицератмутаза 2: 78, 128
- Фосфоглицериды, см. Глицерофосфолипиды
- 3-Фосфоглицериновая кислота 2: 32, 33
- Фосфоглюкоизомеразы (глюкозо-фосфатизомеразы) 2: 72, 111
- Фосфоглюкомутаза 2: 87, 157
- Фосфоглюконатдегидрогеназа 2: 109
- Фосфоглюконатный путь, см. Пентозофосфатный путь
- Фосфодиэстеразы циклических нуклеотидов 1: 606
 - и зрение 1: 602, 653, 654
- Фосфодиэфирная связь, в нуклеиновых кислотах 1: 396
- Фосфоенолпируват (ФЕП) 1: 309, 310; 2: 79, 100
 - в глиоксилатном цикле растений 2: 211, 212
 - в глицеронеогенезе 2: 468
 - в глюконеогенезе 2: 98, 104
 - в переносе фосфорильных групп 2: 36, 37, 79
 - гидролиз 2: 32
 - образование
 - из оксалоацетата 2: 212
 - из пирувата 2: 100
 - из 2-фосфоглицерата 2: 79
- Фосфоенолпируваткарбоксикиназа (ФЕП-карбоксикиназа) 2: 101
- Фосфоенолпируваткарбоксилаза (ФЕП-карбоксилаза) 2: 424
- Фосфоинозитид-3-киназа 1: 616, 622

- Фосфокреатин 2: 536, 537
 – в мышцах 2: 588, 589
 Фосфолипаза 1: 504, 517
 – А: 1 503, 504, 536; 2: 461
 – С 1: 504, 507, 530, 609, 659
 Фосфолипиды 1: 496
 – в составе мембран 1: 527, 528, 530, 533, 534
 – группы головки 2: 470, 471, 473
 – двойной слой 1: 527, 528
 – инозита 1: 507
 – методы анализа 1: 517
 – переносчики 1: 540, 541
 – расщепление в лизосомах 1: 503
 – синтез 2: 470, 472, 476
 – транспорт 2: 485, 486
 Фосфоманноизомеразы 2: 90
 Фосфопантетеин 2: 450–452
 Фосфопентозоизомеразы 2: 109
 Фосфопорин Е 1: 536
 Фосфопротеинфосфатаза
 – 1 (фосфатаза фосфорилазы *a*)
 2: 127, 167, 168, 170
 – 2А 2: 127, 146, 150
 – в регуляции цикла лимонной кислоты 2: 208, 214
 Фосфопротеины 1: 131
 Фосфор, ковалентные связи 2: 25, 26
 Фосфорамидитный метод синтеза ДНК 1: 422, 423
 5-Фосфорибозил-1-пирофосфат 2: 518
 5-Фосфорибозиламин 2: 545, 547
 Фосфорибозилпирофосфат (PRPP) 2: 544
 Фосфорилаза, *см. также* Гликогенфосфорилаза 1: 325; 2: 165, 166
 – крахмала 2: 87
 Фосфорилирование; *см. также* Аутофосфорилирование
 – АТРаз 1: 560–562
 – аминокислотных остатков 1: 122, 123
 – ацетил-СоА-карбоксилазы 2: 243
 – белка ретинобластомы 1: 664, 665
 – в метаболизме углеводов 1: 347
 – в передаче сигнала 1: 619–627
 – сАМР 1: 599, 602–604
 – сGMP 1: 627
 – в β -адренергическом пути 1: 606, 607
 – в бактериях 1: 644–646
 – в поливалентных адаптерных белках 1: 629–631
 – в пути IP₃/диацилглицерина 1: 611
 – в пути JAK-STAT 1: 624, 625
 – в пути PI-3K-ПКВ 1: 622, 623
 – в растениях 1: 644–646
 – киназой β -адренергического рецептора 1: 606
 – протеинкиназой А 1: 599, 602–604
 – рецепторными протеинкиназами 1: 619, 624
 – в процессинге РНК 3: 143
 – в регуляции
 – активности ферментов 1: 324, 327, 605
 – экспрессии 3: 268, 269
 – в репликации ДНК 3: 64
 – в сердечной мышце 2: 589, 590
 – в синтезе сахарозы 2: 428, 429
 – в транскрипции 3: 120
 – в ферментативных каскадах 1: 606, 619–626
 – гликогенфосфорилазы 1: 326
 – глюкозы 2: 71
 – консенсусные последовательности 1: 327, 603, 605
 – множественное 1: 325, 328
 – обратимость 1: 328
 – окислительное 2: 78, 305–346
 – посттрансляционное 3: 206
 – потенциал (DGr) 2: 30
 – протонный градиент 2: 382
 – родопсина 1: 654
 – субстратное 2: 78
 – фруктозо-6-фосфата 2: 72, 73
 – циклинзависимых протеинкиназ 1: 661–663; 3: 64, 120
 Фосфорилируемые соединения, энергия гидролиза 2: 29–33
 Фосфорильная группа
 – и АТР 2: 25, 26, 35–38, 41
 – перенос 2: 25, 26
 – от неорганических полифосфатов 2: 42
 – от ФЕП 2: 37
 – функция в гликолизе 2: 71–80
 Фосфоролиз 2: 87, 155, 197
 Фосфотирозинсвязывающий домен 1: 630
 Фосфотирозинфосфатазы 1: 632
 Фосфофруктокиназа
 – 1 (ФФК-1) 2: 72, 73, 99, 103, 430
 – регуляция 2: 143, 346
 – 2 (ФФК-2) 2: 146, 429, 430, 611
 Фотодыхание 2: 420, 422
 Фотолитазы 2: 55
 – в репарации ДНК 3: 74, 75
 Фотолитография 1: 463, 464
 Фотон 2: 359
 – энергия 2: 359–370
 Фотопигменты 1: 655
 – главные и вспомогательные 2: 362, 363
 6,4-Фотопродукт 1: 417, 418
 Фотосинтез 2: 356–366
 – С₂-путь 2: 422
 – Р₁-триозофосфатный антипорт 2: 416, 417
 – ассимиляция СО₂ 2: 404
 – в С₄-растениях 2: 420, 423, 424
 – в САМ-растениях 2: 420
 – восстановительный пентозофосфатный путь 2: 406
 – гликолатный путь 2: 420–422
 – и фотофосфорилирование 2: 357
 – поглощение энергии света хлорофиллом 2: 359–366
 – световые реакции 2: 358
 – синтез крахмала 2: 426–428
 – синтез сахарозы 2: 428–430
 – спектр действия 2: 362, 364
 – темновые реакции 2: 358
 – фиксация углерода 2: 358;
см. также Цикл Кальвина
 – фотодыхание 2: 420
 – функция АТР 2: 415
 – функция NADPH 2: 415
 – эволюция 2: 385–387
 Фотосистема 2: 365
 – I/II 2: 367–375
 – связь с цитохромом *b6f* 2: 376–379
 Фототрофы 1: 20
 Фотофосфорилирование 2: 357
 – в хлоропластах 2: 358, 359
 – и окислительное фосфорилирование 2: 382
 – поглощение света 2: 359–365
 – расщепление воды 2: 379, 380
 – реакция Хилла 2: 359
 – синтез АТР 2: 381, 382
 – стехиометрия 2: 383, 384
 – хемиосмотическая теория 2: 328
 Фотохимические реакционные центры 2: 365, 366
 – Fe-S 2: 370–373
 – бактерий 2: 367, 368
 – растений 2: 372
 Фракционирование
 – белков 1: 132
 – клеток 1: 24, 87
 Франклин Розалинд 1: 400, 401
 Фруктоза 1: 340, 341, 343, 344
 Фруктозо-1,6-бисфосфат 2: 72, 73
 – в цикле Кальвина 2: 411–413
 – расщепление 2: 73
 – регуляция 2: 143, 144

Фруктозо-1,6-бисфосфатаза **2**: 103, 139, 412, 418, 429
 – активация светом **2**: 418, 419
 Фруктозо-1-фосфат **2**: 88, 89
 Фруктозо-2,6-бисфосфат **2**: 144, 146
 – в синтезе сахарозы **2**: 429, 430
 Фруктозо-2,6-бисфосфатаза **2**: 146
 Фруктозо-6-фосфат **2**: 146
 – в синтезе сахарозы **2**: 411, 430
 – в цикле Кальвина **2**: 411, 413
 Фруктозодифосфатальдолаза (альдолаза) **2**: 73
 Фруктозофосфатальдолаза **2**: 89
 Фруктокиназа **2**: 88
 L-Фтораланин **2**: 538
 Фтордезоксиглюкоза **2**: 82, 83, 591
 Фторурацил **2**: 558, 559

Х

Хансон Ричард **2**: 468
 Хантингтин **1**: 217
 Хантингтона болезнь **1**: 484
 – аномальный фолдинг **1**: 215, 217
 Хартли Б. С. **1**: 302
 Хеликазы **3**: 54
 – в репарации **3**: 70, 73, 74
 – в репликации **3**: 54, 55, 57–65
 Хемиосмотическая теория (теория Митчелла) **2**: 305, 327–329, 339, 382
 Хемогетеротрофы **1**: 58
 Хемотаксис, двухкомпонентная передача сигнала **1**: 644–646
 Хемотрофы **1**: 20
 Хендерсона–Хассельбаха уравнение **1**: 98, 99
 Хенселейт Курт **2**: 273
 Херши Альфред **1**: 400
 Херши–Чейза эксперимент **1**: 400
 Хеураса проекционные формулы **1**: 344, 345, 351
 Хилл Арчибальд **1**: 239
 Хилл Роберт **2**: 359
 Хилла график **1**: 242
 Хилла коэффициент **1**: 239; **2**: 127, 136
 Хилла реагент **2**: 359
 Хилла уравнение **1**: 239
 Хиломикроны **2**: 228, 485–487
 Химиотерапевтические препараты
 – ингибиторы протеиназ **1**: 667, 668
 – ингибиторы топоизомеразы **3**: 24, 25
 – мишени в биосинтезе нуклеотидов **2**: 558–560
 – транскрипционный профиль **1**: 465, 466

Химическая реакция
 – механизм **1**: 304, 305
 – отличие от биохимической реакции **2**: 27
 Химические модели молекул
 – СРК **1**: 33–35
 – шаро-стержевая **1**: 33, 34
 – перспективная **1**: 33, 34
 Химические элементы
 – незаменимые **1**: 29
 – следовые (микроэлементы) **1**: 29
 Химический синтез ДНК **1**: 643
 – фосфорамидитный метод **1**: 422
 Химотрипсин **1**: 129, 130, 200, 273, 298; **2**: 25, 264, 568
 – каталитическая активность **1**: 291, 302
 – комплементарность переходному состоянию **1**: 306
 – механизм реакции **1**: 283, 301–305
 – синтез **1**: 328, 329
 – структура **1**: 301
 Химотрипсиноген **1**: 131, 139; **2**: 264
 Хиральные молекулы **1**: 35–38
 – оптическая активность **1**: 117
 Хиральный центр **1**: 35
 Хитин **1**: 356
 Хитчингс Джордж **2**: 557, 560
 хлДНК (ДНК хлоропластов) **3**: 12
 Хлорамфеникол **3**: 209
 Хлоридно-бикарбонатный обменник **1**: 556–558
 Хлориды
 – в плазме крови **2**: 591
 – в цитозоле и внеклеточной жидкости **1**: 634
 Хлорные каналы
 – в сигнальных путях **1**: 633–635
 – при кистозном фиброзе **1**: 565, 566, 579
 Хлоропласты **1**: 26, 159; **2**: 405, 406
 – АТФ-синтаза **2**: 384
 – ДНК **3**: 12
 – интеграция фотосистем I и II **2**: 367, 372, 373, 377, 379
 – мембранные липиды **1**: 500, 526, 527
 – метаболизм липидов **2**: 453, 454
 – синтез
 – АТФ **2**: 377
 – NADPH **2**: 375, 454, 455
 – жирных кислот **2**: 453, 454
 – крахмала **2**: 426–430
 – транспорт белков **3**: 210, 215
 – фотосинтез **2**: 366
 – эволюция **2**: 386, 387

Хлорофилл **2**: 359, 361–363
 – антенны **2**: 365
 – передача возбуждения **2**: 364–366
 – типы **2**: 361, 363
 Хлороформ, для экстракции липидов **1**: 515, 516
 Хогланд Малон **1**: 10; **3**: 166
 Ходжкин Дороти Кроуфут **2**: 240
 Холдейн Дж. Б. С. **1**: 269, 270, 280, 287
 Холдейн Хейзел **1**: 258
 Холекальциферол (витамин D₃) **1**: 510, 511
 Холерный токсин **1**: 324, 677
 Холестерин **1**: 504
 – биосинтез **2**: 479–484
 – в мембранах **1**: 526, 527, 545, 632
 – в синтезе изопrenoидов **2**: 479–484, 497
 – в синтезе стероидных гормонов **2**: 495, 496
 – и *транс*-жирные кислоты **1**: 494
 – избыточный синтез **2**: 492
 – липопротеиновые комплексы **2**: 227, 228
 – медикаментозное снижение содержания **2**: 493, 494
 – опосредованный рецепторами эндцитоз **2**: 490, 491
 – регуляция синтеза **2**: 491, 492
 – структура **1**: 504
 – транспорт **2**: 485–489
 – обратный **2**: 488, 489
 – этерификация **2**: 484, 485
 – эфиры **2**: 484, 485
 Холецистокинин **2**: 264
 Холидея структуры **3**: 84, 85, 89, 93
 Холли Роберт **3**: 166
 Холофермент **1**: 271
 Хондронинсульфат **1**: 364, 365
 Хоризмат, в биосинтезе аминокислот **2**: 524, 526–528
 Хоминг **3**: 148, 149
 Хроматиды сестринские **3**: 82, 83
 Хроматин **3**: 27
 – активный/неактивный **3**: 257, 258
 – ацетилирование/деацетилирование **3**: 257, 258
 – в 30-нм волокнах **3**: 31, 34
 – гетерохроматин **3**: 257
 – и гистоны **3**: 27–29, 258
 – изменения при транскрипции **3**: 257, 258
 – конденсированный **3**: 257
 – нуклеосомы **3**: 27–35
 – ремоделирование **3**: 258
 – сборка **3**: 27–35
 – эухроматин **3**: 32, 257

Хроматография

- адсорбционная **1**: 515, 516
- аффинная **1**: 134, 135
- высокоэффективная жидкостная **1**: 135
- газожидкостная **1**: 516, 517
- ионообменная **1**: 132–134
- колоночная **1**: 132, 135, 254
- тонкослойная **1**: 169, 515, 516
- эксклюзионная **1**: 134
- Хроматофор **2**: 382
- Хромосомы **3**: 27
- бактериальные **1**: 439, 442; **3**: 10, 36, 37
- димерные, репарация **3**: 93, 94
- дочерние **1**: 403
- дрожжевые искусственные **1**: 442, 443; **3**: 15
- конденсация **3**: 27
- структура **3**: 27–35
- эукариотические **3**: 11, 27–35
- Хугстин Карст **1**: 406
- Хугстиновские пары **1**: 406
- Хэтч Маршалл **2**: 424

Ц

- Цветовое зрение **1**: 654–656
- Цвиттер-ион **1**: 123
- Целакант, анаэробный метаболизм **2**: 92
- Целебрекс **2**: 462, 463
- Целлюлаза **1**: 355
- Целлюлоза **1**: 355, 357; **2**: 431
- синтез **2**: 432–434
- Целлюлозосинтаза **2**: 432–434
- Цельвегера синдром **2**: 246
- Центральная догма молекулярной биологии **3**: 6, 144
- Центрифугирование
- дифференциальное **1**: 23, 24
- изопикническое **1**: 23, 24
- Центромера **3**: 14
- α -Цепь коллагена **1**: 187, 188
- Церамид **1**: 502, 505
- регуляторная функция **1**: 507
- Цереброзиды **2**: 478–478
- Церулоплазмин **1**: 372, 373
- Цетуксимаб (эрбитукс) **1**: 669
- Цианобактерии **1**: 21, 61; **2**: 203
- фиксация азота **2**: 6, 510
- фотофосфорилирование **2**: 372, 373
- эволюция **1**: 58–60; **2**: 386, 387
- Цианокобаламин **2**: 240
- Цикл лимонной кислоты (цикл трикарбоновых кислот, цикл Кребса) **2**: 181–207
- активация ацетата **2**: 182
- анаплеротические реакции **2**: 204
- в метаболизме глюкозы **2**: 582
- в метаболизме липидов **2**: 584
- в печени **2**: 582–584
- и глиоксилатный цикл **2**: 211–213
- компоненты **2**: 203
- неполный, в анаэробных бактериях **2**: 202
- образование изоицитрата **2**: 192
- образование цитрата **2**: 190
- окисление
- ацетата **2**: 202
- изоицитрата до α -кетоглутарата и CO_2 **2**: 192
- малата до оксалоацетата **2**: 199
- сукцината до фумарата **2**: 198
- онкогенные мутации **2**: 211
- открытие **2**: 222
- пируватдегидрогеназный комплекс **2**: 182–187
- пируваткарбоксилазная реакция **2**: 205, 206
- превращение сукцинил-CoA в сукцинат **2**: 196
- продукты **2**: 201
- реакции **2**: 188, 189
- регуляция **2**: 208–211
- связь с циклом мочевины **2**: 275, 276
- стадии **2**: 190
- энергия окисления **2**: 201
- Цикл мочевины **2**: 273–279
- генетические дефекты **2**: 277–279
- связь с циклом лимонной кислоты **2**: 275, 276
- Циклинзависимые протеинкиназы (CDK) **1**: 661–664
- ингибирование **1**: 664
- продукты онкогенов **1**: 668, 669
- Циклины **1**: 661–664; **3**: 64
- Циклический AMP, см. cAMP
- Циклический GMP, см. cGMP
- Циклоглоксимид **3**: 209
- Циклооксигеназа (COX) **2**: 461, 462
- ингибиторы **2**: 461, 462
- Циклосерин **2**: 538
- Циметидин **2**: 542
- Цинга **1**: 189–191
- Цинковые пальцы **3**: 240, 241
- Ципрофлоксацин **3**: 24
- Цис-конфигурация пептидной связи **1**: 182, 183
- Цистатионин- β -синтаза **2**: 522
- дефект **2**: 287
- Цистатионин- γ -лиаза **2**: 522

- Цистеин **1**: 120, 121, 146
- биосинтез **2**: 519, 521, 522, 532
- в железосерных кластерах **2**: 311
- расщепление до пирувата **2**: 285
- Цистин **1**: 120, 121, 146
- Цис-транс-изомеры **1**: 34
- Цитидилат **1**: 393
- Цитидилатсинтаза **2**: 549
- Цитидин **1**: 393, 400, 419
- Цитидиндифосфат (CDP) **2**: 471, 472
- Цитидинмонофосфат (CMP) **1**: 547; **2**: 471
- Цитидинтрифосфат (CTP) **1**: 48
- Цитозин **1**: 392, 393, 399, 424
- дезаминирование **1**: 416, 417
- метилирование **1**: 419
- Цитозоль **1**: 18
- метаболизм липидов **2**: 454
- синтез сахарозы **2**: 436
- синтез целлюлозы **2**: 433
- Цитокинины **1**: 470
- Цитокины **1**: 624, 475
- в регуляции клеточного цикла **1**: 664
- Цитоплазма **1**: 18, 20, 24
- филаменты **1**: 24
- Цитоскелет **1**: 24, 25
- Цитотоксические Т-клетки (Т_с-клетки) **1**: 250
- Цитохромоксидаза **1**: 271; **2**: 313, 318, 320, 460; см. также Комплекс IV
- Цитохромы **2**: 48, 309, 310, 312
- b5 **2**: 459
- цитохром-b5-редуктаза **2**: 459
- b6f **2**: 365, 372, 373, 376–379, 387
- bc1 **2**: 317, 318, 368, 370; см. также Комплекс III
- c **1**: 129, 130, 139, 200; **2**: 309, 310, 313, 318, 350, 387
- f **1**: 84; **2**: 376
- P-450 **2**: 348, 349, 459, 460, 496
- связь фотосистем I и II **2**: 372, 373, 376
- Цитрат **2**: 192, 200
- асимметрические реакции **2**: 199, 200
- в синтезе жирных кислот **2**: 455, 456
- образование в цикле лимонной кислоты **2**: 188, 190
- переносчик **2**: 455, 456
- Цитратлиаза **2**: 456
- Цитратсинтаза **2**: 190, 191, 204, 455, 456
- Цитруллин **1**: 122, 123, 162
- Цукеркандл Эмиль **1**: 156, 433

Ч

- Чаргафф Эрвин 1: 400
- Чаргаффа правила 1: 400, 401
- Чейз Марта 1: 400
- Четвертичная структура белков 1: 141, 185–214
- Чек Томас 3: 126
- Число оборотов (k_{cat}) 1: 291
- Чувствительные нейроны 1: 633–659

Ш

- Шайн Джон 3: 196
- Шайна–Далгарно последовательность 3: 196, 197
- Шалли Эндрю 3: 567
- Шанже Жан-Пьер 1: 242
- Шаперонины 1: 212–214
- Шапероны 1: 53, 158, 212, 213, 487; 3: 253, 258
- Шаро-стержевая модель 1: 178, 188
- Шарп Филипп 3: 125
- Шаттл-вектор 1: 443
- Шаффри Элеазар 2: 468
- Шпильки
 - в аттенуаторе 3: 247
 - в ДНК 1: 406
 - в РНК 1: 409, 410; 3: 116, 142, 190, 247, 252, 270
- Шульц Петер 1: 308
- Шумейкер Джеймс 2: 295

Щ

- Щелочная фосфатаза 1: 435, 485
- Щитовидная железа 2: 571
 - гормоны 2: 571, 575; *см. также* Тиреоидные гормоны

Э

- Эволюционное древо 1: 19, 159, 160
- Эволюция 1: 19, 20, 54
 - *in vitro* (SELEX) 3: 154 – 158
 - адаптация к водной среде 1: 73
 - бактерий 1: 21; 2: 508, 509
 - галапагосских выюлков 3: 278–280
 - горизонтальный перенос генов 1: 157
 - и гипотеза «мира РНК» 1: 55, 56; 3: 153–159
 - и гомологии в белках и генах 1: 60–62, 155–161
 - и семейства белков 1: 157–159, 203
 - иммунной системы 3: 97, 98
 - интронов 3: 148
 - Миллера–Юри эксперимент 1: 55
 - митохондрий 2: 352
 - молекулярных паразитов 3: 97, 155
 - ретротранспозонов 3: 148

- роль аденина 3: 152, 153
- роль мутаций 1: 54; 3: 278–280
- роль эндосимбиоза 1: 59, 60; 2: 352
- фотосинтеза 2: 385–387
- хлоропластов 2: 386
- цианобактерий 2: 181, 386, 387
- эукариотических клеток 1: 59, 60
- Эгр Питер 1: 571
- Эдельман Джеральд 1: 251
- Эдман Пер 1: 145
- Эйвери Т. Освальд 1: 400
- Эйвери–Маклеода–МакКарти эксперимент 1: 400
- Эйкозановая кислота 1: 488
- Эйкоаноиды 1: 507–510; 2: 458, 574; *см. также* Лейкотриены; Простагландин; Тромбоксаны
 - сигнальная функция 2: 572, 574
 - синтез 2: 458, 461, 574
- Эйкозатриеноат и эйкозатетраеноат, синтез 2: 461
- Эйлер–Челпин Ганс 2: 66
- Эймс Брюс 3: 67
- Эймса тест 3: 67
- Экзергонические реакции 1: 44–46, 558
 - сопряжение с эндергоническими реакциями 1: 44–46, 558
- Экзонуклеазы 3: 48
 - III 1: 435
 - бактериофага λ 1: 435
 - в репарации ДНК 3: 50, 51, 70, 71
 - корректирующая активность 3: 51–54, 63
- Экзоны 3: 12, 13, 122
 - транскрипция 3: 123, 131–133
- Экзоцитоз 1: 25
- Экситон 2: 361
 - перенос 2: 361
- Экспрессия генов 3: 230
 - индукция 3: 230
 - конститутивная 3: 230
 - регуляция 3: 229–280
 - репрессия 3: 230, 231
- Эксцизионная нуклеаза 3: 74
- Эксцизионная репарация 3: 68
 - нуклеотидов 3: 73, 74
 - оснований 3: 71–73
- Элайон Гертруда 2: 505, 557
- Эластин, и протеоглики 1: 359, 367
- Эластичности коэффициент 2: 134–136
- Электрический заряд
 - аминокислот 1: 120, 125
 - влияние pH 1: 120, 125
- Электрогенный транспорт 1: 559
- Электродвижущая сила 2: 44

- Электролиты, содержание в плазме 2: 591, 592
- Электромагнитное излучение 2: 359
- Электронейтральный транспорт 1: 558
- Электронпереносный флавопротеин (ETF) 2: 234
- Электроны
 - акцепторы универсальные 2: 307
 - в молочнокислом брожении 2: 90, 91
 - переносчики 2: 44, 45
 - NADH и NADPH 2: 49, 50
 - специализированные 2: 49
 - универсальные 2: 49, 50
 - стандартный восстановительный потенциал 2: 47
- Электроотрицательность атомов 1: 75, 76
- Электропорация 1: 439
- Электроспрей (ESI-масс-спектрометрия) 1: 149
- Электростатические взаимодействия с водой 1: 75, 77
- Электрофилы, в ферментативных реакциях 1: 304; 2: 21–24
- Электрофорез
 - белков 1: 136–139
 - в клонировании 1: 449
 - в секвенировании ДНК 1: 420–422
 - двумерный 1: 139, 463; 2: 126
 - ДНК 1: 454–456
 - пульсирующий 1: 443
- Электрхимический градиент 1: 551; 2: 323
 - в поляризации мембраны 1: 634
 - изменение свободной энергии 1: 560; 2: 323
- Элементы гормонального ответа (HRE) 1: 643; 3: 267, 268
- Элерса–Данлоса синдром 1: 191
- Элиминация реакции 2: 20, 23, 25
- Эллиптицин 3: 25
- Элонгация 3: 179, 180, 199–202
 - в транскрипции 3: 106, 112, 118
- Эльвейм Конрад 2: 53
- Эмбден Густав 2: 66
- Эмбриональное развитие, регуляция генов 3: 271–279
- Энантиомеры 1: 35, 36
 - моносахариды 1: 341
- Эндергонические реакции 1: 44–46, 558
 - сопряжение с экзергоническими реакциями 1: 44–46, 558
- Эндо Акиро 2: 493, 494

Эндокринные железы **2**: 576, 577
 -- секрция гормонов **2**: 566, 574, 578
 Эндонуклеазы **3**: 48
 -- АР-эндонуклеаза **3**: 73
 -- в репарации ДНК **3**: 69, 73, 74
 -- рестрикции **1**: 434–438
 -- в создании библиотек ДНК **1**: 449
 Эндоплазматический ретикулум
 -- α -окисление **2**: 249
 -- посттрансляционная модификация белков **3**: 211
 -- синтез жирных кислот **2**: 457, 458
 -- ферменты семейства Р-450 **2**: 349
 Эндосимбиоз **1**: 59, 60; **2**: 352, 386
 Эндосимбиотические бактерии, эволюция хлоропластов **1**: 60; **2**: 386
 Эндоцитоз **1**: 25
 -- опосредованный рецепторами **2**: 490; **3**: 219
 Энергетический метаболизм **2**: 6–10
 Энергетическое сопряжение реакций **1**: 45
 Энергия активации **1**: 47, 48, 274
 -- белковых конформаций **1**: 172, 173
 -- Гиббса (*G*) **1**: 44, 47; **2**: 13–15
 -- диссоциации **1**: 75
 -- запасенная в АТФ **1**: 45, 425 **2**: 29, 587, 588
 -- и константа скорости **1**: 277
 -- источники в организме **2**: 600
 -- конформации сахаров **1**: 357
 -- мембранного транспорта **1**: 550–559
 -- протондвижущая сила **2**: 323
 -- растворения **1**: 79
 -- света, поглощение хлорофиллом **2**: 359, 360
 -- связывания **1**: 277
 -- солнечная **1**: 105; **2**: 6, 356–358
 -- термодинамические законы преобразования в организме **2**: 12–20
 -- ферментативной реакции **1**: 274–282
 -- фолдинга **1**: 173, 174, 179, 211, 212

Энергия диссоциации **1**: 75
 Энтальпия (*H*) **1**: 44; **2**: 13
 -- изменение (ΔH) **1**: 76; **2**: 14
 Энтеропептидаза **2**: 264
 Энтропия (*S*) **1**: 44; **2**: 13
 -- и стабильность белков **1**: 211, 212
 -- изменение (ΔS) **1**: 44, 212, 282; **2**: 14
 -- снижение в ферментативных реакциях **1**: 282
 Энхансеры **3**: 233, 260
 Энцефалопатия, митохондриальная **2**: 354
 Эпигенетика **3**: 32
 Эпимеры **1**: 343, 361
 Эпитоп **1**: 250, 254
 -- в очистке белковых комплексов **1**: 467
 -- каталитические антитела **1**: 308
 Эргокальциферол (витамин D_2) **1**: 511
 Эритроза **1**: 342
 Эритрозо-4-фосфат, в цикле Кальвина **2**: 413, 414
 Эритропоэтин **1**: 624
 -- рекомбинантный **1**: 479
 -- рецептор **1**: 625
 Эритроциты **1**: 233, 373, 479; **2**: 591, 592
 -- JAK-STAT-путь **1**: 624
 -- аквапорины **1**: 570, 571
 -- гликофорин **1**: 369, 527, 531
 -- изменение свободной энергии в реакциях гликолиза **2**: 98
 -- мембранные белки **1**: 530, 531
 -- образование **1**: 233
 -- транспорт глюкозы **1**: 553, 554
 -- форма **1**: 246, 247
 -- хлоридно-бикарбонатный обменник **1**: 556–558
 Эритролуза **1**: 342
 Эрлотиниб (тарцева) **1**: 669
 Эстрадиол **1**: 509, 647; **2**: 495
 Эстрогены **1**: 643, 644; **2**: 495
 -- синтез **2**: 575
 Этан **2**: 46

Этанол, см. Спирты
 Этаноламинкиназа, мутации **2**: 474
 Этилен, рецепторы в растениях **1**: 647
 Этопозид **3**: 25
 Эубактерии **1**: 19, 21
 Эукариоты
 -- ДНК **3**: 11–15
 -- клеточный цикл **1**: 660
 -- структура клеток **1**: 18, 22, 24
 -- эволюция **1**: 19, 59, 60
 Эухроматин **3**: 257
 Эфиры, гидролиз
 -- изменение стандартной свободной энергии **2**: 16
 -- переходное состояние **1**: 307
 -- сложных эфиров и тиоэфиров **2**: 33, 34
 Эфффекторы **3**: 232
Я
 Яблочный фермент, см. Малатдегидрогеназа
 Ягендорф Андраэ **2**: 382
 Ядерные белки **3**: 216, 217
 Ядерные рецепторы **1**: 595
 Ядерные факторы транскрипции **3**: 268
 Ядерный магнитный резонанс (ЯМР)
 --- в анализе углеводов **1**: 380
 --- в определении структуры белка **1**: 197–199
 Ядро **1**: 18
 -- транспорт белков **3**: 216, 217
 Яды
 -- и ионные каналы **1**: 579, 581
 -- ингибирование трансляции **3**: 207–209
 Язва желудка **1**: 61, 374
 Яичники **2**: 575, 576
 Ялоу Розалин **2**: 568, 569
 ЯМР, см. Ядерный магнитный резонанс
 Янг Уильям **2**: 71
 Янус-киназа (JAK) **1**: 624; **2**: 608

III ПУТИ ПЕРЕДАЧИ ИНФОРМАЦИИ

24 Гены и хромосомы	7
24.1. Элементы хромосом	7
Гены — это участки молекул ДНК, кодирующие полипептиды и молекулы РНК	8
Молекулы ДНК гораздо крупнее, чем клеточные или вирусные структуры, в которые они упакованы	9
Гены и хромосомы эукариот очень сложно организованы	12
Краткое содержание	15
24.2. Сверхспирализация ДНК	15
Большинство клеточных ДНК раскручены	17
Степень скручивания ДНК определяется топологическим параметром — порядком зацепления	18
Топоизомеразы катализируют изменение порядка зацепления в ДНК	21
Для компактной упаковки ДНК нужна особая форма сверхспирализации	23
Дополнение 24-1. Медицина. Лечение заболеваний путем ингибирования топоизомераз	24
Краткое содержание	26
24.3. Структура хромосом	27
Хроматин состоит из ДНК и белков	27
Гистоны — небольшие основные белки	28
Нуклеосомы — основные структурные единицы хроматина	28
Нуклеосомы образуют структуры с более сложной организацией	31
Дополнение 24-2. Медицина. Эпигенетика, структура нуклеосом и варианты гистонов	32
Структура конденсированных хромосом поддерживается SMC-белками	35
Бактериальная ДНК тоже сложно организована	36
Краткое содержание	37
Ключевые термины	38
Дополнительная литература для дальнейшего изучения	38
Вопросы и задачи	39
Анализ экспериментальных данных	41

25 Метаболизм ДНК	43
25.1. Репликация ДНК	45
Основные принципы репликации ДНК	45
ДНК разрушается нуклеазами	48
ДНК синтезируется ДНК-полимеразами	49
Репликация — очень точный процесс	50
У <i>E. coli</i> не менее пяти ДНК-полимераз	52
В репликации ДНК участвует множество ферментов и белковых факторов	54
Репликация хромосомы <i>E. coli</i> происходит поэтапно	56
Репликация в эукариотических клетках происходит по похожей схеме, но сложнее	64
Вирусные ДНК-полимеразы являются мишенями для противовирусной терапии	66
Краткое содержание	66
25.2. Репарация ДНК	66
Онкологические заболевания связаны с мутациями	67
Все клетки имеют несколько систем репарации ДНК	68
Взаимодействие репликативных вилок с повреждением в ДНК может запустить подверженный ошибкам синтез ДНК через повреждение	76
Дополнение 25-1. Медицина. Репарация ДНК и рак	79
Краткое содержание	80
25.3. Рекомбинация ДНК	81
Гомологичная генетическая рекомбинация выполняет несколько функций	81
Рекомбинация в ходе мейоза начинается с двухцепочечных разрывов	84
В рекомбинации участвует множество ферментов и других белков	85
Для репарации заблокированных репликативных вилок используются все возможности метаболизма ДНК	89
Сайт-специфическая рекомбинация приводит к точным перестройкам ДНК	89

Для полной репликации хромосомы может потребоваться сайт- специфическая рекомбинация	93
Подвижные генетические элементы перемещаются из одного участка ДНК в другой	94
Сборка генов иммуноглобулинов происходит путем рекомбинации	95
Краткое содержание	98
Ключевые термины	98
Дополнительная литература для дальнейшего изучения	98
Вопросы и задачи	100
Анализ экспериментальных данных	102

26 Метаболизм РНК 105

26.1. ДНК-зависимый синтез РНК	106
РНК синтезирует РНК-полимераза	108
Синтез РНК начинается с промоторов	110
Дополнение 26-1. Практическая биохимия. РНК-полимераза оставляет свой след на промоторе	111
Транскрипция регулируется на нескольких уровнях	115
Специфические последовательности подают сигнал прекращения синтеза РНК	116
В клетках эукариот содержатся РНК-полимеразы трех типов	117
Для проявления активности РНК-полимеразы II требуются другие белковые факторы	118
Возможно селективное ингибирование ДНК-зависимой РНК-полимеразы	121
Краткое содержание	122
26.2. Процессинг РНК	122
К 5'-концу эукариотической мРНК присоединяется кэп	123
Из ДНК в РНК транскрибируются и интроны, и экзоны	125
РНК катализирует сплайсинг интронов	125
На 3'-конце молекулы мРНК имеются характерные структуры	130
Альтернативный процессинг РНК приводит к образованию нескольких продуктов одного гена	131

Молекулы рРНК и тРНК также подвергаются процессингу	133
РНК со специализированными функциями подвергаются различным вариантам процессинга	137
Каталитические РНК осуществляют некоторые реакции метаболизма РНК	138
Ферментативные свойства интронов группы I	139
мРНК в клетке разрушаются с разной скоростью	142
Полиинуклеотидфосфорилаза создает случайные РНК-подобные полимеры	142
Краткое содержание	143

26.3. РНК-зависимый синтез РНК и ДНК	144
Обратная транскриптаза синтезирует ДНК с матрицы вирусной РНК	144
Некоторые ретровирусы вызывают рак и СПИД	146
Дополнение 26-2. Медицина. Борьба со СПИДом с помощью ингибиторов обратной транскриптазы	147
Многие транспозоны, ретровирусы и интроны могут иметь общее эволюционное происхождение	148
Теломераза — специализированная обратная транскриптаза	148
Некоторые вирусные РНК реплицируются РНК-зависимой РНК-полимеразой	151
Синтез РНК открывает важный подход к изучению биохимической эволюции	151
Дополнение 26-3. Практическая биохимия. Метод SELEX для получения РНК с заданными свойствами	154
Дополнение 26-4. Расширяющийся мир РНК, или транскрипты с неизвестной функцией	156
Краткое содержание	159
Ключевые термины	159
Дополнительная литература для дальнейшего изучения	159
Вопросы и задачи	161
Биохимия в Интернете	162
Анализ экспериментальных данных	162

27	Метаболизм белка	165	Гликозилирование играет ключевую роль в транспорте белка	212
27.1.	Генетический код	166	Сигнальные последовательности ядерных белков не отщепляются	216
	Генетический код был расшифрован с помощью искусственных мРНК	167	Бактерии тоже используют сигнальные последовательности для транспорта белков	217
Дополнение 27-1.	Исключение, подтверждающее правило: природные вариации генетического кода	172	Белки проникают в клетки путем опосредованного рецепторами эндоцитоза	219
	«Качание» позволяет некоторым молекулам тРНК распознавать более одного кодона	172	Расщепление белков во всех клетках осуществляется специализированными системами	220
	Считывание последовательности зависит от сдвига рамки и редактирования РНК	175	Краткое содержание	223
	Краткое содержание	178	Ключевые термины	223
27.2.	Синтез белков	178	Дополнительная литература для дальнейшего изучения	224
	Синтез белка происходит в пять стадий	179	Вопросы и задачи	225
	Рибосома — сложная надмолекулярная машина	180	Анализ экспериментальных данных	227
Дополнение 27-2.	Из мира РНК в мир белка	182		
	Транспортные РНК имеют специфическую структуру	184		
	Стадия 1: аминоксил-тРНК-синтазы присоединяют определенные аминокислоты к соответствующим молекулам тРНК	186		
Дополнение 27-3.	Естественное и искусственное расширение генетического кода	191		
	Стадия 2: синтез белка инициирует определенная аминокислота	195		
	Стадия 3: пептидные связи образуются на стадии элонгации	199		
	Стадия 4: для прекращения синтеза полипептида нужен специальный сигнал	202		
Дополнение 27-4.	Индукцированные вариации генетического кода: нонсенс-супрессия	203		
	Стадия 5: вновь синтезированные полипептиды сворачиваются и процессируются	205		
	Многие антибиотики и токсины ингибируют синтез белка	207		
	Краткое содержание	209		
27.3.	Транспорт и расщепление белков	210		
	Посттрансляционная модификация многих эукариотических белков начинается в эндоплазматическом ретикулуме	211		
28	Регуляция экспрессии генов	229		
28.1.	Принципы регуляции генов	230		
	РНК-полимераза связывается с ДНК в области промоторов	231		
	Инициация транскрипции регулируется белками, которые связываются с промоторами или недалеко от них	232		
	Многие бактериальные гены собраны в кластеры и регулируются в виде оперонов	234		
	Отрицательная регуляция лактозного оперона	235		
	Регуляторные белки содержат специальные ДНК-связывающие домены	237		
	Регуляторные белки содержат также домены, ответственные за взаимодействия белка с белком	241		
	Краткое содержание	243		
28.2.	Регуляция экспрессии генов у бактерий	243		
	Положительная регуляция лактозного оперона	243		
	Многие гены ферментов биосинтеза аминокислот регулируются путем аттенуации транскрипции	245		

При индукции SOS-ответа происходит разрушение репрессорных белков	249	Экспрессия эукариотических генов может регулироваться внеклеточными и внутриклеточными сигналами	266
Синтез рибосомных белков происходит координированно с синтезом рРНК	250	Регуляция может осуществляться путем фосфорилирования ядерных факторов транскрипции	268
Функция некоторых мРНК регулируется малыми РНК по <i>цис</i> - или <i>транс</i> -механизму	252	Трансляция многих эукариотических мРНК подавляется	268
Некоторые гены регулируются путем генетической рекомбинации	254	Посттранскрипционный сайленсинг гена опосредован РНК	270
Краткое содержание	256	У эукариот реализуется несколько вариантов РНК-опосредованной регуляции экспрессии генов	271
28.3. Регуляция экспрессии генов у эукариот	257	Развитие контролируется каскадами регуляторных белков	271
Транскрипционно активный хроматин по структуре отличается от неактивного хроматина	257	Дополнение 28-1. О плавниках, крыльях и клювах	278
Хроматин ремоделируется путем ацетилирования и перемещения нуклеосом	258	Краткое содержание	281
Многие эукариотические промоторы подвергаются положительной регуляции	260	Ключевые термины	281
ДНК-связывающие активаторы и ко-активаторы способствуют сборке основных факторов транскрипции	260	Дополнительная литература для дальнейшего изучения	282
Гены метаболизма галактозы в дрожжах подвергаются и положительной, и отрицательной регуляции	263	Вопросы и задачи	283
Активаторы транскрипции имеют модульное строение	265	Биохимия в интернете	284
		Анализ экспериментальных данных	285
		Приложение А. Принятые в биохимии сокращения и аббревиатуры	287
		Приложение Б. Краткие решения задач и ответы на вопросы	291
		Словарь терминов	347
		Источники иллюстраций	375
		Предметно-именной указатель	389

Оглавление тома 1

Предисловие к русскому изданию

Краткое содержание трех томов

Об авторах книги

Несколько слов о науке

Предисловие

Благодарности

1 Основы биохимии

- 1.1. Принципы организации клетки
- 1.2. Химические основы биохимии
- 1.3. Физические основы биохимии
- 1.4. Генетические основы биохимии
- 1.5. Эволюционные основы биохимии

I СТРОЕНИЕ И КАТАЛИЗ

2 Вода

- 2.1. Слабые взаимодействия в водных средах
- 2.2. Ионизация воды, слабые кислоты и слабые основания
- 2.3. Роль буферных систем в поддержании pH в биологических системах
- 2.4. Участие воды в реакциях
- 2.5. Живые организмы приспособлены к водной среде

3 Аминокислоты, пептиды и белки

- 3.1. Аминокислоты
- 3.2. Пептиды и белки
- 3.3. Как работать с белками
- 3.4. Структура белка: первичная структура

4 Трехмерная структура белков

- 4.1. Обзор белковых структур
- 4.2. Вторичная структура белка
- 4.3. Третичная и четвертичная структуры белка
- 4.4. Денатурация и фолдинг белка

5 Функции белков

- 5.1. Обратимое связывание белков с лигандами: белки, связывающие кислород
- 5.2. Комплементарное взаимодействие между белками и лигандами: иммунная система и иммуноглобулины
- 5.3. Энергозависимые взаимодействия белков: актин, миозин и молекулярные моторы

6 Ферменты

- 6.1. Введение
- 6.2. Как работают ферменты
- 6.3. Ферментативная кинетика как подход к пониманию механизма действия ферментов
- 6.4. Примеры ферментативных реакций
- 6.5. Регуляторные ферменты

7 Углеводы и гликобиология

- 7.1. Моносахариды и дисахариды
- 7.2. Полисахариды
- 7.3. Гликоконъюгаты: протеоглики, гликопротеины и гликолипиды
- 7.4. Углеводы как информационные молекулы: код сахаров
- 7.5. Методы анализа углеводов

8 Нуклеотиды и нуклеиновые кислоты

- 8.1. Основные понятия
- 8.2. Структура нуклеиновых кислот
- 8.3. Химия нуклеиновых кислот
- 8.4. Другие функции нуклеотидов

9 Технологии на основе информации из ДНК

- 9.1. Клонирование ДНК: основные понятия
- 9.2. От генов к геномам

- 9.3. От геномов к протеомам
- 9.4. Изменения генома и новые продукты биотехнологии

10 Липиды

- 10.1. Запасные липиды
- 10.2. Структурные липиды в мембранах
- 10.3. Липиды как сигнальные вещества, кофакторы и пигменты
- 10.4. Методы анализа липидов

11 Биологические мембраны и транспорт

- 11.1. Состав и строение мембран
- 11.2. Динамика мембран
- 11.3. Транспорт веществ через мембраны

12 Биосигнализация

- 12.1. Общие свойства систем передачи сигналов

- 12.2. Рецепторы, сопряженные с G-белком, и вторичные мессенджеры
- 12.3. Рецепторные ферменты
- 12.4. Рецепторные гуанилатциклазы, cGMP и протеинкиназа G
- 12.5. Мультивалентные адаптерные белки и мембранные рафты
- 12.6. Регулируемые ионные каналы
- 12.7. Интегрины: двунаправленные рецепторы, ответственные за клеточную адгезию
- 12.8. Регуляция транскрипции стероидными гормонами
- 12.9. Сигнализация у микроорганизмов и растений
- 12.10. Сенсорная передача сигнала в процессах зрения, обоняния и вкуса
- 12.11. Регуляция клеточного цикла протеинкиназами
- 12.12. Онкогены, гены опухолевых супрессоров и программируемая гибель клетки

II БИОЭНЕРГЕТИКА И МЕТАБОЛИЗМ

13 Основы биоэнергетики. Типы химических реакций

- 13.1. Биоэнергетика и термодинамика
- 13.2. Химические основы биохимических реакций
- 13.3. Перенос фосфатных групп и АТФ
- 13.4. Окислительно-восстановительные реакции в биологических системах

14 Гликолиз, глюконеогенез и пентозофосфатный путь

- 14.1. Гликолиз
- 14.2. Метаболические пути, питающие гликолиз
- 14.3. Превращение пирувата в анаэробных условиях: брожение
- 14.4. Глюконеогенез
- 14.5. Пентозофосфатный путь окисления глюкозы

15 Принципы регуляции метаболизма

- 15.1. Регуляция метаболических путей
- 15.2. Теория контроля метаболизма
- 15.3. Согласованная регуляция гликолиза и глюконеогенеза
- 15.4. Метаболизм гликогена в клетках животных
- 15.5. Согласованная регуляция синтеза и распада гликогена

16 Цикл лимонной кислоты

- 16.1. Образование ацетил-СоА — активированного ацетата
- 16.2. Реакции цикла лимонной кислоты
- 16.3. Регуляция цикла лимонной кислоты
- 16.4. Глиоксилатный цикл

17 Катаболизм жирных кислот

- 17.1. Расщепление, активация и транспорт жиров
- 17.2. Окисление жирных кислот
- 17.3. Кетоновые тела

18 Окислительное расщепление аминокислот и образование мочевины

- 18.1. Метаболические пути аминокислот
- 18.2. Выделение азота и цикл мочевины
- 18.3. Пути деградации углеродного скелета аминокислот

19 Окислительное фосфорилирование и фотофосфорилирование

ОКИСЛИТЕЛЬНОЕ ФОСФОРИЛИРОВАНИЕ

- 19.1. Реакции переноса электронов в митохондриях
- 19.2. Синтез АТФ
- 19.3. Регуляция окислительного фосфорилирования
- 19.4. Роль митохондрий в термогенезе, синтезе стероидов и апоптозе
- 19.5. Митохондриальные гены: происхождение и мутации

ФОТОСИНТЕЗ: ПОГЛОЩЕНИЕ СОЛНЕЧНОЙ ЭНЕРГИИ

- 19.6. Основные особенности фотофосфорилирования
- 19.7. Поглощение света
- 19.8. Основной фотохимический процесс — это индуцированный светом перенос электронов
- 19.9. Синтез АТФ в процессе фотофосфорилирования
- 19.10. Эволюция окислительного фотосинтеза

**20 Биосинтез углеводов
у растений и бактерий**

- 20.1. Фотосинтез углеводов
- 20.2. Фотодыхание, C_4 - и САМ-пути
- 20.3. Биосинтез крахмала и сахарозы
- 20.4. Синтез полисахаридов клеточной
стенки: целлюлоза растений
и пептидогликан бактерий
- 20.5. Интеграция углеводного метаболизма
в растительной клетке

21 Биосинтез липидов

- 21.1. Биосинтез жирных кислот
и эйкозаноидов
- 21.2. Биосинтез триацилглицеринов
- 21.3. Биосинтез мембранных
фосфолипидов
- 21.4. Биосинтез холестерина, стероидов
и изопреноидов

**22 Биосинтез аминокислот,
нуклеотидов и родственных
соединений**

- 22.1. Общий обзор метаболизма азота
- 22.2. Биосинтез аминокислот
- 22.3. Производные аминокислот
- 22.4. Биосинтез и деградация нуклеотидов

**23 Гормональная регуляция
и интеграция метаболизма
млекопитающих**

- 23.1. Гормоны: различные структуры
для различных функций
- 23.2. Тканеспецифичный метаболизм:
разделение функций
- 23.3. Гормональная регуляция
энергетического метаболизма
- 23.4. Ожирение и регуляция массы тела
- 23.5. Ожирение, метаболический синдром
и диабет II типа

Страница, строка, колонка	Напечатано	Следует читать
5, справа в сноске	jeHninger5e	lehninger5e
10, 2, справа	Мюллисом	Маллисом
65, 27, справа	$(4/3)\omega r^2$	$(4/3)\pi r^3$
66, 4 слева	$\omega r^2 h$	$\pi r^2 h$
66, 12, справа	$4\omega r^2$	$4\pi r^2$
68, слева	формулы фосфатидилхолина и метэнкефалина	перепутаны местами
109, 35, слева	концентраций	концентрации
217, 17, справа	извест-но	известно
224, справа, таблица, 3-й столбец	L-протеаза	L-субстрат
239, справа; 2 раза в формуле	(5-13)	(5-16)
248, 20, слева	последст-вием	последствием
265, 4 слева	Providence	Providence
265, 22, слева	$\alpha_2\beta_2$ -димеров	$\alpha\beta$ -димеров
266, 1, слева	в Интернете программ	в Интернете и программ
267, справа, подпись под рисунком	Частота связывания миозина или фрагментов миозина с шариками	Плотность связывания миозина или фрагментов миозина на шариках
288, последнее уравнение справа	$v_0 = k_2 [E_t] [S] / (K_M + [S])$	$v_0 = v_{\max} [S] / (K_M + [S])$
289, последнее уравнение слева	$\frac{1}{v_0} = \frac{K_M}{V_{\max} [S]} + \frac{[S]}{V_{\max} [S]}$	$\frac{1}{v_0} = \frac{K_M}{V_{\max} [S]} + \frac{1}{V_{\max}}$
333, 11, слева	происходящую	находясь
337, 3, слева	приведенная	приведенную
338, 6, справа	более крупной аминокислоты	на более крупную аминокислоту
338, 9, справа	Объясните этот результат.	Объясните, что в этом удивительного.
388, 12, слева	160 г/моль	162 г/моль
430, 20, слева	гидролизует	гидролизует
431, 33, слева	на расстояние	на расстоянии
442, 28, слева	электропореза	электропорации
450, 3, слева	последовательно-меченные сайты	ДНК-маркирующие сайты
450, 34, слева	последовательно-меченным сайтом	ДНК-маркирующим сайтом
470, 3, справа	стимулирующих	стимулирующие
482, 24, справа	селектируемого	селективного
482, 26, справа	Потерю своей функции нарушенным геном	Потерю функции гена
484, 2 слева	...рекомбинации, ДНК на обоих концах сегмента, которые скрепляются вместе, а удаленная...	...рекомбинации, при которой участки на концах сегмента слипаются, и удаленная...
485, 19, слева	привнесенной	чужеродной
488, табл. 10-1, 4-й столбец, 7-я строка	Аальмитолеиновая	Пальмитолеиновая

Страница, строка, колонка	Напечатано	Следует читать
494, 3, справа	ЛВВП	ЛПВП
500, подпись под рисунком, 4-я строка	дифтаниловые	дифтитанильные
506, рисунок	Таурохолиновая	Таурохолевая
508, рис.10-18	в изображении простагландина Е1 пятичленный цикл должен быть замкнут	
521, 45, слева	могут быть образовываться	могут быть образованы
545, 18, справа	предпочений	предпочтений
564, 41, 44 слева, 3 справа	MDRN1	MDR1
567, рис.11-42, 6	вертикальная ось – [Лактоза] _{в среде} , штриховая линия – [Лактоза] _{внутри}	вертикальная ось – [Лактоза] _{внутри} , штриховая линия – [Лактоза] _{в среде}
587, 33, справа	человечка	человека
589, 16, слева	адреналин	адреналина
599, 1, слева	гетеродимер	гетеротример
602, доп. 12-2, 19, слева	находящуюся	находящейся
617, рис.12-12, а	[Ca ²⁺] (нМ)	[Ca ²⁺] (мкМ)
617, рис.12-12, б	[Ca ²⁺] в цитозоле (мМ)	[Ca ²⁺] в цитозоле (нМ)
630, 7, слева	в то числе	в том числе
640, 4, справа	сильные усилители	эффективные усилители
655, 13, слева	их	из
658, 6, слева	G-белки	G-белков
677, 10, слева	пионерные	пионерские
678 8 2 раза	ЭДТА	ЭГТА
679, 8, слева	– 95 мВ	–95 мВ
681, 44 слева	белокм	белок
681, под графиком	аменорид	амелорид

Том 2

Страница, строка, колонка	Напечатано	Следует читать
17, 7, справа	закон действующих масс	отношение действующих масс
37, 43, справа	(с. 861)	(с. 518)
60, 7 слева	Приемлима	Приемлема
60, 17, справа	Сопряжение разрыва АТР	Сопряжение гидролиза АТР
61, 7, слева	«Химическая»	Химическая
62, 19, слева	масса человека	тело человека
62, 29, справа	Энергетический спектр	Энергетика
63, 10, слева	Электронное родство соединений	Сродство соединений к электронам
63, рисунок	(В)	(Б)
81, 20, слева	вначале	в начале
101, 1, слева	молочной кислоты	яблочной кислоты
117, 21, слева	гексозобисфосфата, та, даже	гексозобисфосфата, даже
117, 29, слева	3-фосфоглицерат	3-глицерофосфат
159, табл. 1, 1-й столбец, 5-я строка	болезнь Помпа	Болезнь Помпе
205, табл. 16-2, 4-я строка	малат-фермент	малик-фермент
208, 15, слева	малат-фермент	малик-фермент
219, 13, слева	был в 7 раз выше необходимо	было в 7 раз выше необходимого
221, 21, справа	значения в 0,5 мг/л	значения 0,5 мг/л
221, 35, справа	описывается S-образной	описывается S-образной кривой
222, 25, справа	В организмах	Существуют организмы
234, 40, справа	β -гидроксиацил	β -гидроксиацил
235, 30, слева	трехфункциональным	трифункциональным
256, 39, слева	кофермент А-эфиры	эфиры кофермента А
257, 20, слева	одинаково хороши	были бы так же хороши
257, 1, справа	окисления карнитина равна	окисления олеата равна
258, 24, справа	использует ферментативно связанный	использует связанный
264, 31, справа	специфический ингибитор — белок ингибитора трипсина	специфический ингибитор трипсина
291, 11, слева	фенилаланингидролазы	фенилаланингидроксилазы
300, 25, слева	Объясните, принцип	Объясните принцип
300, 30, слева	но не в различных	но в различных
300, 33, слева	аминных групп	в аминогруппах
300, 34, слева	збыток	избыток
301, 15, слева	у ребенка бы частая рвота	у ребенка частая рвота
301, 17, слева	отставало нормы	отставали от нормы
302, 6, справа	(образовании глицина)	(образования глицина)
302, 10, справа	аналогичных некоторым в цикле	аналогичных некоторым реакциям в цикле
350, рис. 19-37, внизу	к гибели и утилизации	к гибели и расщеплению
350, 32, слева	апоптозоме	апоптосоме

Страница, строка, колонка	Напечатано	Следует читать
397, 18, справа	мутантных агентов	мутагенов
398, 13, слева	которая потенциально соответствует	которая соответствует
400, 5, справа	фотосинтезирующего процесса	процесса фотосинтеза
401, 3 слева	Образуется ли NADPH.	Образуется ли NADPH?
438, подпись под рис. 20-35	в каждом пуле соединения легко	в каждом пуле легко
440, 43, справа	в которых совместно используются	в которых используются
450, 1, слева	4'-фосфопантатеин	4'-фосфопантетеин
450, 4, слева	4'-фосфопантатеиновая	4'-фосфопантетеиновая
450, на рисунке и в подписи	фосфопантатеин, фосфопантотеин	фосфопантетеин
450, 31, справа	фосфопантатеина	фосфопантетеина
452, 15, 21, 28, справа	фосфопантатеина	фосфопантетеина
453, подпись к рисунку	фосфопантатеиновая	фосфопантетеиновая
462, 2, слева	НПВП	НПВС
463, 16, справа	НПВП	НПВС
464, 14, слева	фосфопантатеин	фосфопантетеин
468, 11, слева	Леа Решеф	Леей Решеф
495, 45, слева	минералкортикоиды	минералокортикоиды
500, 17, справа	жирноацил-СоА	СоА-производных жирных кислот
501, 31, слева	волосы	шерсть
502, 1, слева	Изобразите	Найдите
515, 7, справа	(уридилирования)	(уридинилирования)
515, 12, справа	уридилирование	уридинилирование
515, 13, справа	деуридилирование	деуридинилирование
519, уравнение слева	Рибоза-5-фосфат	Рибозо-5-фосфат
540, 3, справа	орнитинкарбоксилазой	орнитиндекарбоксилазой
544, 8, слева	Фосфорибозилпирофосфат (PRPP) важную роль	Фосфорибозилпирофосфат (PRPP) играет важную роль
567, подпись под рис. 23-2	ТТГ	ТРГ
568, 10, справа	молодой ученый, работающий	молодой ученый, работавший